Col·lecció
«Ciències experimentals»
Núm. 10

FISIOLOGÍA VEGETAL

(Volumen I)

Lincoln Taiz
Universidad de California, Los Angeles

Eduardo Zeiger
Universidad de California, Los Angeles

UNIVERSITAT
JAUME·I

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT JAUME I. Dades catalogràfiques

TAIZ, Lincoln

Fisiología vegetal / Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger. — Castelló de la Plana : Publicacions de la Universitat Jaume I, D.L. 2006
p. : il. ; cm. — (Ciències experimentals ; 10)
Traducció de: Plant physiology, 3rd. ed. — Bibliografia. Index. Glossari.
ISBN 978-84-8021-601-2 (o.c.). — 978-84-8021-599-2 (v.1) .
— 978-84-8021-600-5 (v.2)
1. Fisiologia vegetal. I. Zeiger, Eduardo, coaut. II Universitat Jaume I. Publicacions, ed. III. Títol. IV. Sèrie.
581.1



Foto de la portada
Flor de *Arabidopsis thaliana* por microscopía de epifluorescencia.
© Víctor Flors Herrero, 2006

La edición original de esta obra ha sido publicada en inglés por
Sinauer Associates, Inc, con el título
PLANT PHYSIOLOGY, THIRD EDITION

Edita: Publicacions de la Universitat Jaume I. Servei de Comunicació i Publicacions
Campus del Riu Sec. Edifici Rectorat i Serveis Centrals. 12071 Castelló de la Plana
Fax 964 72 88 32
www.tenda.uji.es e-mail: publicacions@uji.es

ISBN 978-84-8021-601-2 (o.c.). 978-84-8021-599-2 (v.1) . 978-84-8021-600-5 (v.2)

Dipòsit legal: B-55.673-2006

Imprimeix: Book Print Digital, SA

Traducido del inglés por:

Beatriz Blat Egea
Licenciada en Ciencias Químicas
Profesora de Educación Secundaria

Coordinadores:

Pilar García-Agustín
Catedrática del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I de Castellón

Sergio González Nebauer
Profesor Contratado Doctor del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal
Universidad Politécnica de Valencia

Víctor Flors Herrero
Profesor Contratado Doctor del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I de Castellón

PREFACIO

Presentamos la tercera edición de FISIOLOGÍA VEGETAL con satisfacción y gratitud. Satisfacción por la calidad de esta nueva edición y gratitud hacia el gran equipo de colaboradores que lo ha hecho posible

La primera edición, publicada en 1991, tenía 565 páginas y la segunda, publicada en 1998, tenía 792. Cuando nos planteamos la tercera edición era demasiado evidente que para poder introducir los nuevos avances en fisiología vegetal habría que aumentar todavía más el tamaño del libro y, al mismo tiempo, reducir la parte del libro dedicada a los temas que normalmente se tratan en los cursos universitarios de fisiología vegetal. Nuestra solución a este desafío ha sido reducir el tamaño de la versión impresa del libro y proporcionar a los lectores una página web de apoyo: **www.plantphys.net.**

Esta página web incluye el *capítulo 2, Energía y enzimas,* y el *capítulo 14, Expresión génica y transducción de señal*, ambos de la segunda edición y que aportan una revisión básica de conceptos que serán necesarios para la comprensión de los principales temas tratados en este libro. También incluye la mayoría de los cuadros de información complementaria de la segunda edición y otros materiales seleccionados de nivel más avanzado, que normalmente no son tratados en los cursos universitarios.

Lo más destacado del apoyo de la página web es que aporta una dimensión dinámica y única al libro impreso. Lejos de los espacios comprimidos de los libros editados, la página web presenta ensayos originales (breves artículos sobre temas controvertidos escritos por expertos investigadores). Estos ensayos se actualizan frecuentemente, incorporándose nuevos a medida que van surgiendo descubrimientos interesantes. Además, la página web incorpora un componente multimedia al libro, con ficheros de audio y video, impensables en un libro convencional. Esperamos y deseamos que este nuevo concepto de libro-página web facilite su uso tanto en cursos iniciales como en los más avanzados.

Los principales retos de esta nueva edición han sido la mejora pedagógica y la ayuda a los lectores. El texto se ha dinamizado y se ha revisado para conseguir una mayor claridad; contiene ilustraciones y fotos en color; se ha añadido un glosario completo y en la página web están disponibles temas de estudio. Al mismo tiempo, nos he-

mos esforzado en incorporar los recientes avances que reflejan el progreso de la biología vegetal en la era «post-genómica».

Como en las dos ediciones anteriores, la tercera edición no habría sido posible sin la participación y dedicación de un gran número de profesionales. Primero y principal, el destacado grupo de autores que han participado y que han actualizado magníficamente los capítulos, permitiéndonos asegurar su precisión. Al igual que en las ediciones anteriores, hemos repartido la responsabilidad de la supervisión de los capítulos para conseguir un texto coordinado. E. Z. fue el encargado de los capítulos 3-12, 18 y 25, mientras que L. T. fue el encargado de los capítulos 1, 2, 13-17 y 19-24. También queremos agradecer el constante legado intelectual que aportaron Paul Bernasconi, Malcolm Drew, James W. Siedow y Wendy K. Silk, autores que participaron en la segunda edición, pero no lo hicieron en la tercera.

Asimismo queremos agradecer a James Funston, nuestro editor, cuya implicación en el libro es casi tan intensa como la nuestra. Su sabio consejo ha sido indispensable para mantenernos centrados en nuestras metas pedagógicas. Queremos dar las gracias de forma especial a Kathaleen Emerson, nuestra editora gerente en Sinauer Associates, que navegó con gracia y dulzura por las turbulentas aguas del proceso editorial y de producción, consiguiendo el más alto nivel de calidad. También estamos en deuda con Stephanie Hiebert quien realizó un trabajo excepcional como editora y revisora gramatical del texto; a David McIntyre por sus grandes recursos para obtener imágenes del ciberespacio y más allá. Estamos encantados con haber reincorporado a nuestro equipo a Elizabeth Morales. Ella fue la artista de la primera edición; su bella interpretación del arte ha mejorado notablemente la calidad de nuestras ilustraciones. También queremos dar las gracias a nuestro experto en páginas web, Jason Dirks y a Chris Small, Susan McGlew, Joan Gemme, Marie Scavotto y Sydney Carroll por su valioso trabajo.

Estamos profundamente agradecidos a nuestro editor, Andy Sinauer, por su buen juicio en temas de planificación, por su paciencia y por su buena voluntad para correr riesgos en busca de una mayor calidad. No podríamos imaginar trabajar para un editor más agradable y creativo.

Por último, no podríamos haber dedicado a este proyecto tanto tiempo como inevitablemente requería sin la paciencia y comprensión de los que nos rodean: compañeros de departamento, investigadores asociados, estudiantes de grado y de postgrado. Nos gustaría agradecer muy especialmente a nuestras esposas, Lee Taiz y Yael Zeiger-Fischman, su entusiamo y apoyo desde el principio hasta el final.

LINCOLN TAIZ
EDUARDO ZEIGER
Julio 2002

AGRADECIMIENTOS

En tus manos está la versión en castellano de la tercera edición de FISIOLOGÍA VEGETAL de L. Taiz y E. Zeiger. Al igual que lo hicieran estos autores en su versión en inglés la presentamos con satisfacción y gratitud. Satisfacción por ver recompensado todo el esfuerzo realizado, y gratitud hacia todas las personas que han colaborado y han hecho posible esta traducción.

Esta obra es uno de los mejores libros de Fisiología Vegetal que se han editado y pensamos que tener una versión en castellano será de gran ayuda para profesores universitarios y estudiantes de habla hispana. En nuestra edición hemos incorporado las nuevas tecnologías al añadir un CD con las figuras en color que aparecen en el libro, dado que en la edición impresa las imágenes aparecen en blanco y negro. Pensamos que este material será de gran utilidad.

La elaboración de este libro ha sido un trabajo muy laborioso que ha llevado un gran número de horas y años, pero pensamos que el esfuerzo ha valido la pena.

Queremos agradecer a Carme Pinyana y a Màxim Albella la gran labor que han desarrollado y la paciencia que han demostrado con nosotros, grandes desconocedores del mundo editorial.

Por último, quisiéramos agradecer de forma muy especial a todos los profesores e investigadores que han colaborado en la revisión de esta traducción y a todos los que, de una manera u otra, han participado en el nacimiento de la edición en castellano de Fisiología Vegetal.

BEATRIZ BLAT
SERGIO GONZÁLEZ NEBAUER
VÍCTOR FLORS HERRERO
PILAR GARCÍA-AGUSTÍN

LOS AUTORES

Lincoln Taiz es Profesor de Biología en la University of California en Santa Cruz. Obtuvo su doctorado en Botánica en la University of California en Berkeley en 1971. El Dr. Taiz trabajó durante muchos años en la estructura y función de las H^+-ATPasas vacuolares. Tambén trabajó en la tolerancia vegetal a los metales y la función de los flavonoides y aminopeptidasas en el transporte de auxinas. Su investigación actual está centrada en los receptores UV-B y en sus funciones en el fototropismo y apertura estomática.

Eduardo Zeiger es Profesor de Biología en la University of California en Los Angeles. Obtuvo su doctorado en genética vegetal en la University of California en Davis en 1970. Su investigación incluye la función estomática, la transducción sensorial de las respuestas de la luz del azul y el estudio de las aclimataciones estomáticas asociadas a la mejora de los rendimientos de los cultivos vegetales.

Principales colaboradores

Richard Amasino es Profesor en el Department of Biochemistry en la University of Wisconsin-Madison. Obtuvo su doctorado en Biología en Indiana University en 1982 en el laboratorio de Carlos Millar, donde se interesó por la inducción de la floración. Uno de sus intereses en la investigación continúa siendo el mecanismo por el que las plantas regulan el momento oportuno de iniciar la floración. (Capítulo 24)

Robert E. Blankenship es Profesor de Chemistry and Biochemistry en la Arizona State University en Tempe. Obtuvo su doctorado en Química en la University of California en Berkeley en 1975. Sus intereses profesionales incluyen los mecanismos de trasnferencia de energía y electrones en los organismos fotosintéticos y el origen y evolución inicial de la fotosíntesis. (Capítulo 7)

Arnold J. Bloom es Profesor en el Department of Vegetable Crops en la University of California en Davis. Obtuvo su doctorado en Ciencias Biológicas en la Stanford University en 1979. Su investigación se centra en las relaciones planta-nitrógeno, especialmente en las diferentes respuestas de las plantas a la utilización de amonio y nitrógeno como fuentes de nitrógeno. (Capítulos 5 y 12)

Ray A. Bressan es Profesor de Plant Physiology en Purdue University. Obtuvo su doctorado en Fisiología Vegetal en la Colorado State University en 1976. El Dr. Bressan ha estudiado durante años las bases de la tolerancia a la salinidad y a la sequía. Actualmente se dedica al estudio del mecanismo por el que las plantas se defienden de los insectos y las enfermedades fúngicas. (Capítulo 25)

John Browse es Profesor del Institute of Biological Chemistry en Washington State University. Obtuvo su doctorado en la University of Aukland, Nueva Zelanda, en 1977. Las investigaciones del Dr. Browse versan sobre la bioqumíca del metabolismo de lípidos y las respuestas de las plantas a bajas temperaturas. (Capítulo 11)

Bob B. Buchanan es Profesor Plant and Microbial Biology en la University of California en Berkeley. Después de trabajar en fotosíntesis, el Dr. Buchanan centró su atención en la germinación de la semilla, donde sus hallazgos han aportado nuevos conocimientos sobre la germinación y han dado lugar a prometedoras tecnologías. (Capítulo 8)

Daniel J. Cosgrove es Profesor de Biology at the Pennsylvania State University en University Park. Obtuvo su doctorado en Cienicas Biológicas en la Stanford University. Las investigaciones del Dr. Cosgrove están dirigidas al conocimiento del crecimiento vegetal, en concreto a los mecanismos bioquímicos y moleculares que rigen el crecimiento celular y la expansión de la pared celular. Su equipo de investigación descubrió las proteínas de despolimerización de la pared celular, las expansinas, y actualmente se dedica al estudio de la estructura, función y evolución de esta familia génica. (Capítulo 15)

Peter J. Davies es Profesor de Plant Physiology en la Cornell University. Obtuvo su doctorado en Fisiología Vegetal en la University of Reading, en el Reino Unido. Su investigación actual se basa en la utilización de genotipos y análisis poligénicos para determinar la función de las hormonas en la formación del tubérculo de patata, la elongación del tallo y la senescencia vegetal. Se ha encargado de recopilar y editar la principal monografía sobre hormonas vegetales y también ha trabajado en el aislamiento de los genes de la biosíntesis de las giberelinas. (Capítulo 20)

Susan Dunford es Profesor Asociado de Biological Sciences en la University of Cincinnati. Obtuvo su doctorado en la University of Dayton en 1973, especializándose en fisiología celular y vegetal. Las investigaciones de la Dra. Dunford están dirigidas al estudio de los sistemas de transporte a larga distancia en plantas, especialmente en el transporte por el floema y las relaciones hídricas vegetales. (Capítulo 10)

Ruth Finkelstein es Profesor del Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology en la University of California en Santa Barbara. Obtuvo su doctorado en Biología Molecular, Celular y del Desarrollo por la Indiana University en 1986. Sus investigaciones versan sobre los mecanismos de respuesta al ácido abscísico y sus interacciones con otras hormonas, el entorno y las rutas de señalización de nutrientes. (Capítulo 23)

Donald E. Fosket es Profesor de Developmental and Cell Biology en la University of California en Irvine. Obtuvo su doctorado en Biología en la University of Idaho y posteriormente realizó su trabajo postdoctoral en el Brookhaven National Laboratory en Harvard. (Capítulo 16)

Jonathan Gershenzon es Director del Max Planck Institute for Chemical Ecology en Jena, Alemania. Obtuvo su doctorado en la University of Texas en Austin en 1984 y realizó su trabajo postdoctoral en la Washington State University. Su investigación se centra en la biosíntesis de los metabolitos secundarios vegetales y en el establecimiento de las funciones de estos compuestos en las interacciones planta-herbívoro. (Capítulo 13)

Paul M. Hasegawa es Profesor de Plant Physiology en la Purdue University. Obtuvo su doctorado en Fisiología Vegetal en la University of California en Riverside. Su investigación está dirigida al estudio de la morfogénesis vegetal y la transformación genética de plantas. Ha utilizado su experiencia en estas áreas para estudiar muchos aspectos de la tolerancia al estrés en plantas, especialmente la homeostasis iónica. (Capítulo 25)

N. Michele Holbrook es Profesor del Department of Organismic and Evolutionary Biology en Harvard University. Obtuvo su doctorado en la Stanford University en 1995. El grupo de investigación del Dr. Holbrook estudia las relaciones hídricas y el transporte de agua a través del xilema. (Capítulos 3 y 4)

Joseph Kieber es Profesor Asociado en el Biology Department en la University of North Carolina en Chapel Hill. Obtuvo su doctorado en Biología en el Massachusetts

Institute of Technology en 1990. Las investigaciones del Dr. Kieber versan sobre la función de las hormonas en el desarrollo vegetal, centrándose en las rutas de señalización del etileno y citoquininas, así como en la regulación de la biosíntesis del etileno. (Capítulos 21 y 22)

Robert D. Locy es Profesor de Biological Science en la Auburn University en Auburn, Alabama. Obtuvo su doctorado en Bioquímica Vegetal en la Purdue University en 1974. Sus intereses profesionales se centran en los mecanismos bioquímicos y moleculares de la tolerancia vegetal al estrés abiótico y a la educación vegetal de estudiantes universitarios. (Capítulo 25)

Ian Max Møller es Profesor de Plant Biochemistry en el Risø National Laboratory de Dinamarca. Obtuvo su doctorado en Bioquímica Vegetal en el Imperial College de London, Reino Unido, y ha trabajado durante muchos años en la Lund University de Suecia. El profesor Møller ha investigado la respiración vegetal durante toda su vida y sus interes actuales se centran en las NAD(P)H deshidrogenasas respiratorias, la formación de especies reactivas del oxígeno y el estudio de la proteómica funcional de las mitocondria vegetales. (Capítulo 11)

Angus Murphy es Profesor Asesor de Horticulture and Landscape Architecture en la Purdue University. Obtuvo su doctorado en Biología en la University of California, Santa Cruz, en 1996. El Dr. Murphy estudia la regulación del transporte de auxinas y los mecanismos por los que el transporte de proteínas está distribuido asimétricamente en las células vegetales. (Capítulo 19)

Ronald J. Poole es Profesor de Biology en la McGill University, Montreal. Obtuvo su doctorado en la University of Birmingham, Inglaterra, en 1960. Las investigaciones del Dr. Poole están centradas en el transporte de iones en las células vegetales, incluyendo la electrofisiología, la bioquímica y la biología molecular de las bombas iónicas y los canales. (Capítulo 6)

Allan G. Rasmusson es Profesor Asociado de la Lund University en Suecia. Obtuvo su doctorado en Fisiología Vegetal en la misma universidad en 1994. Las investigaciones actuales del Dr. Rasmusson se basan en la regulación de la expresión de las enzimas de la cadena respiratoria, especialmente las NAD(P)H deshidrogenasas y su significado fisiológico. (Capítulo 11)

Jane Silverthorne es Profesor Asociado del Department of Biology en la University of California en Santa Cruz. Obtuvo su doctorado en Biología en la University of Warwick en el Reino Unido en 1980. Sus investigaciones están dirigidas al

estudio de la función del fitocromo en la regulación de los aspectos moleculares del desarrollo vegetal. (Capítulo 17)

Thomas C. Vogelmann es Profesor de Plant Physiology en la University of Vermont and State Agriculture. Obtuvo su doctorado en la Syracuse University en 1980, especializándose en el desarrollo vegetal. Su investigación actual está centrada en cómo las plantas interactuan con la luz. Sus áreas de investigación específicas versan sobre la óptica del tejido vegetal, la función de la estructura foliar respecto a la fotosíntesis y el estrés ambiental y las adaptaciones de las plantas al entorno. (Capítulo 9)

Ricardo A. Wolosiuk es Profesor en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas en la Universidad de Buenos Aires. Obtuvo su doctorado en Química en la misma universidad en 1974. La investigación del Dr. Wolosiuk está relacionada con la modulación del metabolismo de los cloroplastos y la estructura y función de las proteínas vegetales. (Capítulo 8)

Revisores de la edición en inglés

Steffen Abel
University of California, Davis

Lisa Baird
University of San Diego

Wade Berry
University of California, Los Angeles

Mary Bisson
The University of Buffalo

Nick Carpita
Purdue University

James Ehleringer
University of Utah

Steven Huber
North Carolina State University, Raleigh

Tatsuo Kakimoto
Osaka University, Osaka, Japan

J. Clark Lagarias
University of California, Davis

Park S. Nobel
University of California, Los Angeles

David J. Oliver
Iowa State University

Anne Osbourn
The Sainsbury Laboratory, Norwich, U.K.

Phil Reid
Smith College

Eric Schaller
University of New Hampshire

Julian Schroeder
University of California, San Diego

Susan Singer
Carleton College

Edgar Spalding
University of Wisconsin, Madison

Tai-Ping Sun
Duke University

Heven Sze
University of Maryland

Robert Turgeon
Cornell University

Jan Zeevaart
Michigan State University

Revisores de la edición en castellano

Capítulo 1
Miguel Cerezo García
Profesor Titular de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I, Castellón

Capítulos 3 y 4
Fernando Fornés Sebastiá
Profesor Titular de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal
Universidad Politécnica de Valencia

Capítulos 5 y 12
Ildefonso Bonilla Mangas
Catedrático de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología. Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma de Madrid

Capítulos 6 y 24
José Luis Guardiola Bárcena
Catedrático de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal
Universidad Politécnica de Valencia

Capítulos 7 y 8
Miquel Ribas Carbó
Investigador Ramón y Cajal
Grup de Recerca de Biologia de les Plantes en Condicions Mediterrànies
Departament de Biologia
Universitat de les Illes Balears

Capítulo 9
Secundino del Valle Tascón
Catedrático de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departament de Biologia Vegetal
Universitat de València

Capítulo 10
Amparo García Luis
Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal
Universidad Politécnica de Valencia

Capítulo 11
Víctor Flors Herrero
Profesor Contratado Doctor del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I, Castellón

Pilar García-Agustín
Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I, Castellón

Capítulos 13 y 16
Leonor Alegre Batlle
Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal. Unidad de Fisiología Vegetal
Universitat de Barcelona

Capítulo 15
Leonor Lapeña Barrachina
Profesora Titular de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I, Castellón

Capítulos 17 y 18
Jaume Flexas Sans
Profesor Titular de Escuela Universitaria del Área de Fisiología Vegetal
Departament de Biologia
Universitat de les Illes Balears

Capítulos 19 y 23
Aurelio Gómez Cadenas
Profesor Titular de Universidad del Área de Producción Vegetal
Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural
Universitat Jaume I, Castellón

Capítulo 20
Domingo J. Iglesias Fuente
Colaborador Científico Adjunto
Centro de Genómica
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Valencia

Manuel Talón Cubillo
Profesor Investigador
Centro de Genómica
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Valencia

Capítulos 21 y 22
Lorenzo Zacarías García
Investigador Científico del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos
Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Burjasot, Valencia

Capítulo 25
María Jesús Cornejo Martín
Catedrática de Universidad del Área de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal
Universitat de València

CONTENIDOS

VOLUMEN I

VOLUMEN II

ÍNDICE DE MATERIAS

VOLUMEN I

UNIDAD I
TRANSPORTE DE AGUA Y SOLUTOS

UNIDAD II
BIOQUÍMICA Y METABOLISMO

VOLUMEN II

UNIDAD III
CRECIMIENTO Y DESARROLLO

21. CITOQUININAS: REGULADORES DE LA DIVISIÓN CELULAR 943

22. ETILENO: LA HORMONA GASEOSA 991

Capítulo 1

LAS CÉLULAS VEGETALES

EL TÉRMINO «CÉLULA» deriva del latín *cella*, que significa celda o cámara. Este término fue empleado por primera vez en biología en 1665 por el botánico inglés Robert Hooke para describir las unidades individuales de la estructura del tejido de corcho similar a un panal que observó en el microscopio. Las células del corcho que Hooke observó eran, en realidad, el interior vacío de células muertas rodeadas por paredes celulares, pero el término es adecuado porque las células son los bloques básicos que constituyen la estructura vegetal.

Este libro está centrado en los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas, pero no hay que olvidar que estas funciones dependen de ciertas estructuras, tanto del proceso de intercambio gaseoso en la hoja como de la conducción de agua en el xilema, la fotosíntesis en los cloroplastos o el transporte de iones a través de la membrana plasmática. A todos los niveles, estructura y función representan diferentes marcos de referencia de una misma unidad biológica.

Este capítulo proporciona una visión general de la anatomía básica de las plantas, descendiendo desde el nivel de órgano hasta la ultraestructura de los orgánulos celulares. En los siguientes capítulos trataremos estas estructuras con mucho más detalle desde la perspectiva de sus funciones fisiológicas dentro del ciclo vital de la planta.

LA VIDA VEGETAL: UNIFICANDO PRINCIPIOS

La espectacular diversidad de tamaño y forma de las plantas nos es familiar a todos. La gama de tamaños de las plantas varía desde menos de un centímetro a más de 100 metros. La morfología vegetal, o forma, también es extremadamente diversa. A primera vista, la pequeña planta *Lemna* (lenteja de agua) parece tener poco en común con un cactus gigante o con un árbol de secuoya. Sin tener en cuenta sus adaptacio-

nes específicas, todas las plantas llevan a cabo procesos fundamentalmente similares y están basadas en el mismo plan arquitectónico. A continuación podemos resumir los principales elementos del diseño de las plantas.

- Como productores primarios de la tierra, las plantas verdes son los colectores solares básicos. Recogen la luz del sol y transforman la energía luminosa en energía química, que almacenan en los enlaces formados cuando sintetizan carbohidratos a partir de dióxido de carbono y agua.
- Excepto algunas células reproductoras, las plantas no tienen movilidad. Como alternativa a la movilidad han desarrollado la capacidad de crecer hacia fuentes esenciales tales como la luz, el agua y los nutrientes minerales durante toda su vida.
- Las plantas terrestres están reforzadas estructuralmente para soportar su propia masa al crecer hacia la luz del sol en contra de la fuerza de la gravedad.
- Las plantas terrestres pierden agua continuamente por evaporación y han desarrollado mecanismos para evitar la desecación.
- Las plantas terrestres tienen mecanismos para transportar el agua y los minerales desde el suelo hasta los lugares de fotosíntesis y crecimiento, así como mecanismos para transportar los productos de la fotosíntesis a órganos y tejidos no fotosintéticos.

UNA VISIÓN GENERAL DE LA ESTRUCTURA VEGETAL

A pesar de su aparente diversidad, todas las plantas con semillas (véase el **tema web 1.1**) tienen la misma estructura básica (Figura 1.1). El cuerpo vegetativo está formado por tres órganos: **hoja**, **tallo** y **raíz**. La función principal de la hoja es la fotosíntesis, la del tallo es el soporte y la de la raíz es el anclaje y la absorción de agua y minerales. Las hojas se unen al tallo en los **nudos** y la región del tallo entre dos nudos se denomina **entrenudo**. Al tallo más las hojas se les suele denominar **vástago**.

Hay dos categorías de plantas con semillas: las gimnospermas (del griego «semilla desnuda») y angiospermas (del griego «semilla encapsulada», o semillas contenidas en un recipiente). Las **gimnospermas** son el grupo menos evolucionado; se conocen unas 700 especies de gimnospermas. El grupo más grande de gimnospermas es el de las coníferas («portadoras de conos»), que incluye muchas especies de árboles comercialmente importantes como el pino, el abeto, la pícea y la secuoya.

Las **angiospermas**, el tipo más evolucionado de plantas con semillas, se hicieron muy abundantes durante el período Cretácico, hace unos 100 millones de años. Hoy en día, son el tipo dominante en la tierra, compitiendo con ventaja con las gimnospermas. Se conocen unas 250.000 especies, aunque quedan muchas por caracte-

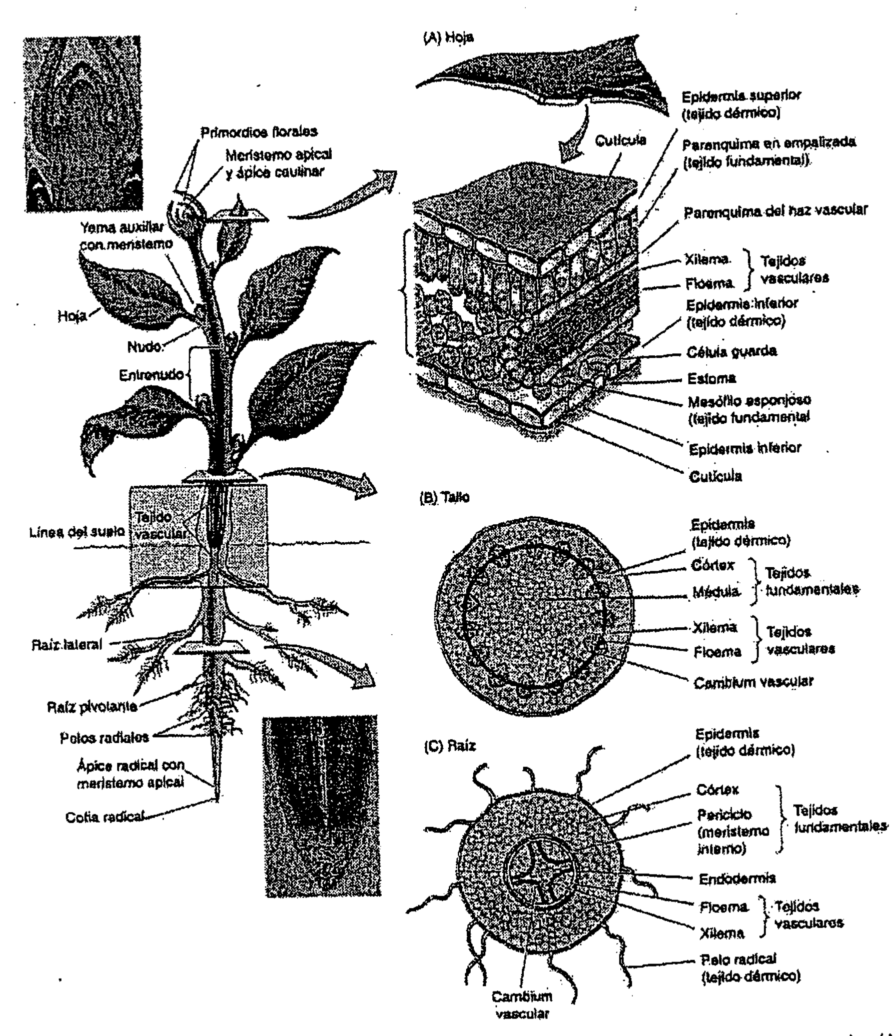


Figura 1.1 Esquema del cuerpo de una dicotiledónea típica. Se muestran las secciones transversales (A) de la hoja, (B) del tallo y (C) de la raíz. Las fotografías muestran las secciones longitudinales del ápice del vástago y de un ápice de raíz de lino (*Linum usitatissimum*), mostrando los meristemos apicales. (Fotos © J. Robert Waaland/Biological Photos Service.)

rizar. La principal innovación de las angiospermas es la flor; por tanto, nos referiremos a ellas como *plantas con flores* (véase el **tema web 1.2**).

Las células vegetales están rodeadas por paredes celulares rígidas

Una diferencia fundamental entre las plantas y los animales es que cada célula vegetal está rodeada por una **pared celular** rígida. En los animales, las células embrionarias pueden migrar de una posición a otra, dando lugar al desarrollo de tejidos y órganos que contienen células que se originan en diferentes partes del organismo. En las plantas, tales migraciones celulares no ocurren porque la pared de cada célula y su vecina están unidas a través de la **lámina media**. En consecuencia, el desarrollo vegetal, a diferencia del desarrollo animal, depende sólo de los patrones de división y crecimiento celular.

Las células vegetales tienen dos tipos de paredes: primaria y secundaria (Figura 1.2). Las **paredes celulares primarias** suelen ser finas (menos de 1 mm) y son características de células jóvenes en crecimiento. Las **paredes celulares secundarias** son más gruesas y resistentes que las paredes primarias y se depositan cuando la mayor parte de la elongación celular ha finalizado. Las paredes celulares secundarias deben su fuerza y resistencia a la **lignina**, un material quebradizo similar a la cola (véase el capítulo 13).

La evolución de las paredes celulares secundarias lignificadas proporcionó a las plantas la estructura reforzada necesaria para crecer verticalmente sobre el suelo y colonizar la tierra. Las briófitas, que carecen de paredes celulares lignificadas, son incapaces de elevarse más de unos pocos centímetros sobre el suelo.

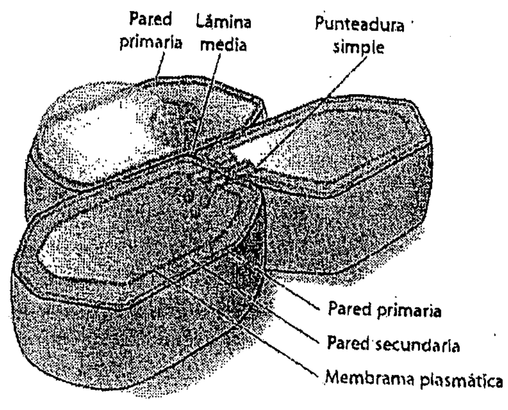


Figura 1.2 Esquema de las paredes celulares primaria y secundaria y su relación con el resto de la célula.

Las células nuevas son producidas por tejidos en división denominados meristemos

El crecimiento vegetal tiene lugar en unas regiones localizadas de división celular llamadas **meristemos**. Casi todas las divisiones nucleares (mitosis) y las divisiones celulares (citocinesis) se producen en esas regiones **meristemáticas**. En una planta joven, los meristemos más activos se llaman **meristemos apicales;** se encuentran localizados en los extremos del tallo y de la raíz (véase la figura 1.1). En los nudos, las **yemas axilares** contienen los meristemos apicales para la ramificación del vástago. Las raíces laterales se forman a partir del **periciclo**, un tejido meristemático interno (véase la figura 1.1C). Junto a las regiones meristemáticas y solapándose con ellas se encuentran las zonas de elongación celular en las que las células aumentan drásticamente en longitud y anchura. Las células se diferencian normalmente en tipos especializados después de su elongación.

La fase del desarrollo vegetal que da lugar a los nuevos órganos y a la forma básica de la planta se denomina **crecimiento primario**. El crecimiento primario resulta de la actividad de los meristemos apicales, en los que la división celular viene seguida de un crecimiento celular progresivo, sobre todo de elongación. Después de que se ha completado la elongación en una región se puede producir el **crecimiento secundario**. El crecimiento secundario implica a dos meristemos laterales, el ***cambium* vascular** (*cambia* en plural) y el ***cambium* suberógeno**. El *cambium* vascular da lugar al xilema secundario y al floema secundario. El ***cambium* suberógeno** produce la peridermis, que está formada principalmente por células de la corteza.

El cuerpo vegetal está compuesto por tres tejidos principales

Los tres sistemas tisulares principales que se encuentran en todos los órganos vegetales son: tejido dérmico, tejido fundamental y tejido vascular. Estos tejidos están ilustrados y caracterizados brevemente en la figura 1.3. Para más detalles y características de estos tejidos, véase el **tema web 1.3.**

LA CÉLULA VEGETAL

Las plantas son organismos multicelulares formados por millones de células con funciones especializadas. En la madurez, las estructuras de dichas células especializadas pueden diferir mucho entre sí, en sus estructuras. Sin embargo, todas las células vegetales tienen la misma organización eucariótica básica: contienen un núcleo,

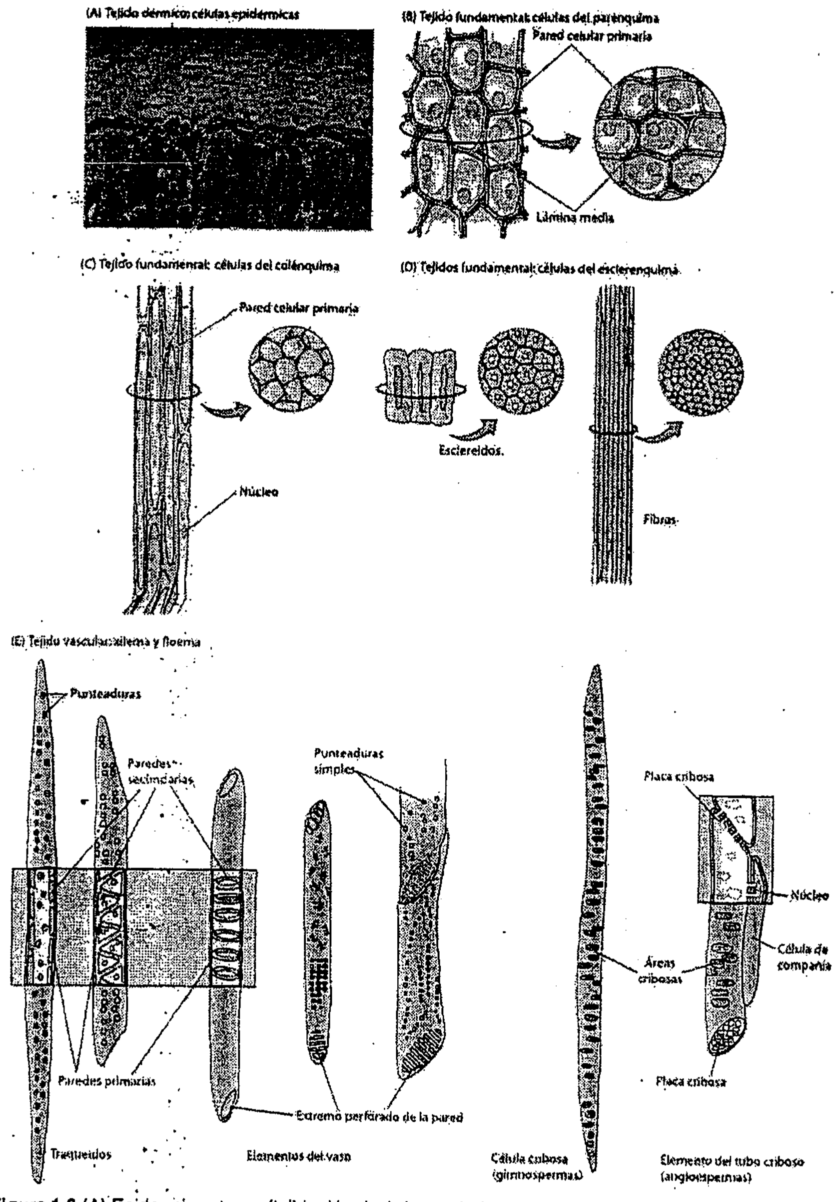


Figura 1.3 (A) Epidermis externa (tejido dérmico) de una hoja de *Welwischia mirabilis* (120×). Esquemas de diferentes tejidos fundamentales: (B) parénquima, (C) colénquima, (D) células de esclerénquima y (E) células conductoras del xilema y del floema. (A © Meckes/Ottawa/ Photo Researches, Inc.)

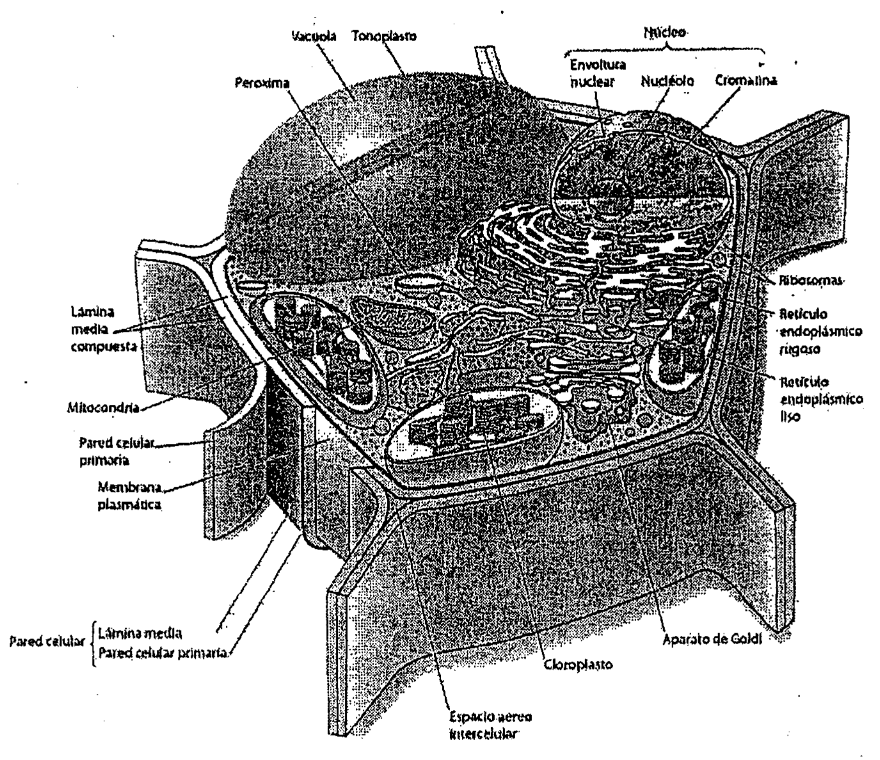


Figura 1.4 Esquema de una célula vegetal. Varios compartimentos intracelulares están delimitados por sus respectivas membranas, como el tonoplasto, la envoltura nuclear y las membranas de los otros orgánulos. Las dos paredes primarias adyacentes, junto con la lámina media, forman una estructura llamada compuesto de la lámina media.

un citoplasma y orgánulos subcelulares y todas ellas están rodeadas por una membrana que las delimita (Figura 1.4). Ciertas estructuras, incluido el núcleo, pueden perderse durante la maduración celular pero todas las células vegetales empiezan con una dotación similar de orgánulos.

Una característica adicional de las células vegetales es que están rodeadas por una pared celular celulósica. En las secciones siguientes de este libro se da una visión general de la membrana y los orgánulos de las células vegetales. La estructura y la función de la pared celular se estudiarán en el capítulo 15.

Las membranas biológicas son bicapas de fosfolípidos que contienen proteínas

Todas las células están rodeadas por una membrana que las delimita, separando el citoplasma del medio externo. Esta **membrana plasmática** (también llamada **plasmalema**) permite a la célula tomar y retener ciertas sustancias y eliminar otras. Diversas proteínas de transporte embebidas en la membrana plasmática son las responsables de este transporte selectivo de solutos a través de la membrana. La acumulación de iones o moléculas en el citosol mediante la acción de proteínas de transporte consume energía metabólica. Las membranas también establecen los límites de los orgánulos internos especializados de la célula y regulan los flujos de iones y metabolitos dentro y fuera de estos compartimentos.

Según el **modelo de mosaico fluido**, todas las membranas biológicas tienen la misma organización molecular básica, que consiste en una doble capa (bicapa) de fosfolípidos o, en el caso de los cloroplastos, de glicosilglicéridos, en la que las proteínas están embebidas (Figura 1.5A y B). En la mayoría de las membranas, las proteínas constituyen cerca de la mitad de su masa. Sin embargo, la composición de los componentes lipídicos y las propiedades de las proteínas varían de una membrana a otra, confiriendo a cada membrana sus características funcionales únicas.

Fosfolípidos. Los fosfolípidos son una clase de lípidos en los que dos ácidos grasos están unidos covalentemente al glicerol que, a su vez, está unido covalentemente a un grupo fosfato. También unido al grupo fosfato hay un componente variable, llamado *grupo de cabeza*, que puede ser serina, colina, glicerol o inositol (Figura 1.5C). A diferencia de los ácidos grasos, los grupos cabeza son altamente polares; por ello, las moléculas de fosfolípidos presentan a la vez propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas (es decir, que son anfipáticas). Las cadenas hidrocarbonadas no polares de los ácidos grasos forman una región que es exclusivamente hidrofóbica, es decir, que repele el agua.

Las membranas de los plastos son únicas, en cuanto que sus componentes lipídicos son casi exclusivamente **glicosilglicéridos** más que fosfolípidos. En los glicosilglicéridos la cabeza polar está formada por galactosa, digalactosa o galactosa sulfatada y carece de grupo fosfato (véase el **tema web 1.4**).

Las cadenas de ácidos grasos de los fosfolípidos y glicosilglicéridos son variables en longitud, pero normalmente contienen entre 14 y 24 carbonos. Normalmente, uno de los ácidos grasos es *saturado* (es decir, no contiene dobles enlaces); la otra cadena del ácido graso suele tener uno o más dobles enlaces *cis* (es decir, es *insaturada*).

La presencia de un doble enlace *cis* provoca un giro en la cadena que impide un empaquetamiento denso de los fosfolípidos en la bicapa. En consecuencia, aumenta la fluidez de la membrana. De hecho, la fluidez de la membrana juega un papel cru-

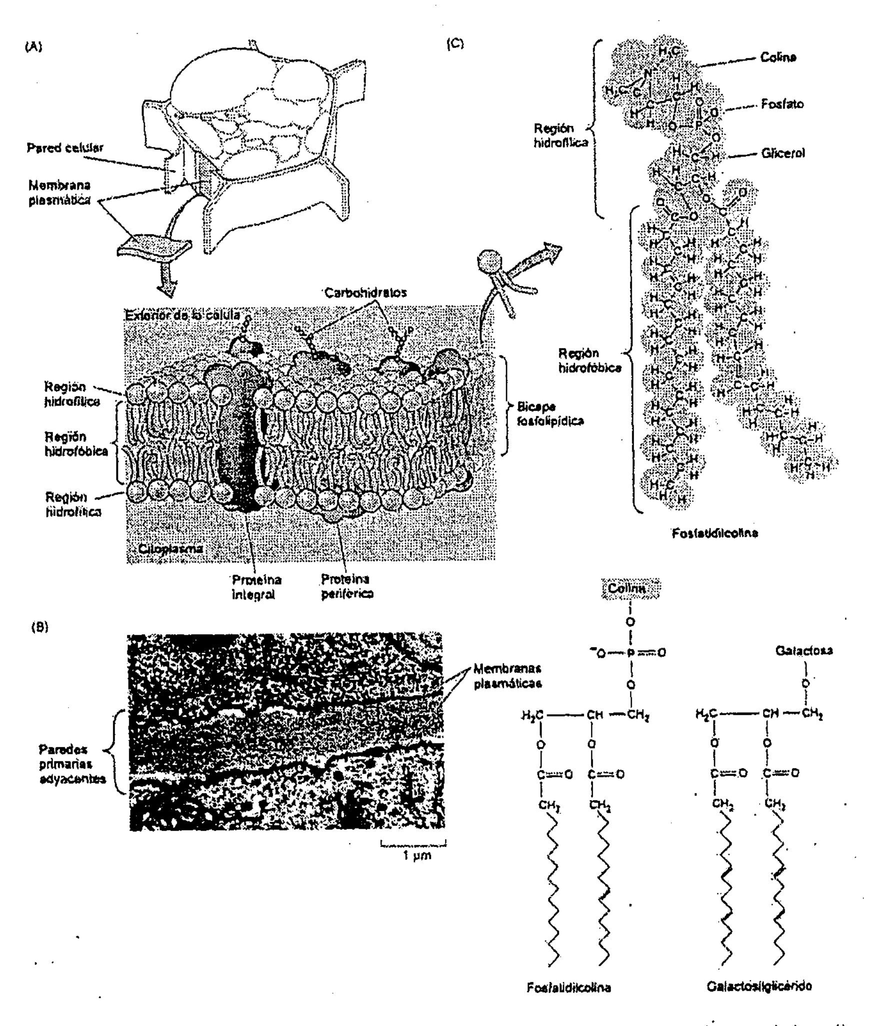


Figura 1.5 (A) La membrana plasmática, el retículo endoplásmico y otras endomembranas de las células vegetales están formadas por proteínas embebidas en la bicapa fosfolipídica. (B) Micrografía electrónica de transmisión que muestra las membranas plasmáticas en células de la región meristemática de un ápice radical de berro (*Lepidium sativum*). El grosor de la membrana plasmática, que se observa como dos densas líneas y un espacio intermedio, es de 8 nanómetros. (C) Estructuras químicas y fosfolípidos típicos: fosfatidilcolina y galactosilglicérido. (B según Gunning y Steer 1996.)

cial en muchas de sus funciones. La fluidez de la membrana también depende en gran medida de la temperatura. Generalmente las plantas no pueden regular su temperatura y con frecuencia se enfrentan al problema de mantener la fluidez en condiciones de baja temperatura. Así, los fosfolípidos vegetales tienen un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, como el ácido oleico (con un doble enlace), el ácido linoleico (con dos dobles enlaces) y el ácido a-linolénico (con tres dobles enlaces), que aumentan la fluidez de la membrana.

Proteínas. Las proteínas asociadas a la bicapa lipídica son de tres tipos, integrales, periféricas y de anclaje. Las **proteínas integrales** están embebidas en la bicapa lipídica; la mayoría de las proteínas integrales se sitúan a lo largo de la bicapa fosfolipídica, de manera que una parte de la proteína interactúa con el exterior de la célula, otra parte interactúa con el centro hidrofóbico de la membrana y una tercera parte interactúa con el interior de la célula, el citosol. Las proteínas que actúan como canales iónicos (véase el capítulo 6) son siempre proteínas integrales de membrana, así como ciertos receptores que participan en las rutas de transducción de señales (véase el capítulo 14). Algunas proteínas similares a receptores que se encuentran en la superficie exterior de la membrana plasmática reconocen y se unen fuertemente a los constituyentes de la pared celular, estableciendo conexiones efectivas entre la membrana y la pared celular.

Las **proteínas periféricas** están unidas a la superficie de la membrana por enlaces no covalentes, como interacciones iónicas o puentes de hidrógeno, y pueden disociarse de la membrana con altas concentraciones salinas o con agentes caotrópicos, que rompen los enlaces iónicos y los puentes de hidrógeno respectivamente. Las proteínas periféricas tienen diferentes funciones en la célula. Por ejemplo, algunas están implicadas en las interacciones entre la membrana plasmática y los componentes del citoesqueleto, como los microtúbulos y microfilamentos de actina, que serán analizados más adelante en este capítulo.

Las **proteínas de anclaje** están unidas a la superficie de la membrana a través de lípidos, a los que están unidas covalentemente. Estos lípidos incluyen ácidos grasos (ácido mirístico y ácido palmítico), grupos prenilo derivados de la ruta del isopreno (grupos farnesilo y geranilgeranilo) y proteínas ancladas al glicosilfosfatidilinositol (GPI) (Figura 1.6) (Buchanan y col. 2000).

El núcleo contiene la mayor parte del material genético de la célula

El **núcleo** es el orgánulo que contiene la información genética mayoritariamente responsable de la regulación del metabolismo, el crecimiento y la diferenciación celular. En conjunto, estos genes se conocen como **genoma nuclear**. El tamaño del ge-

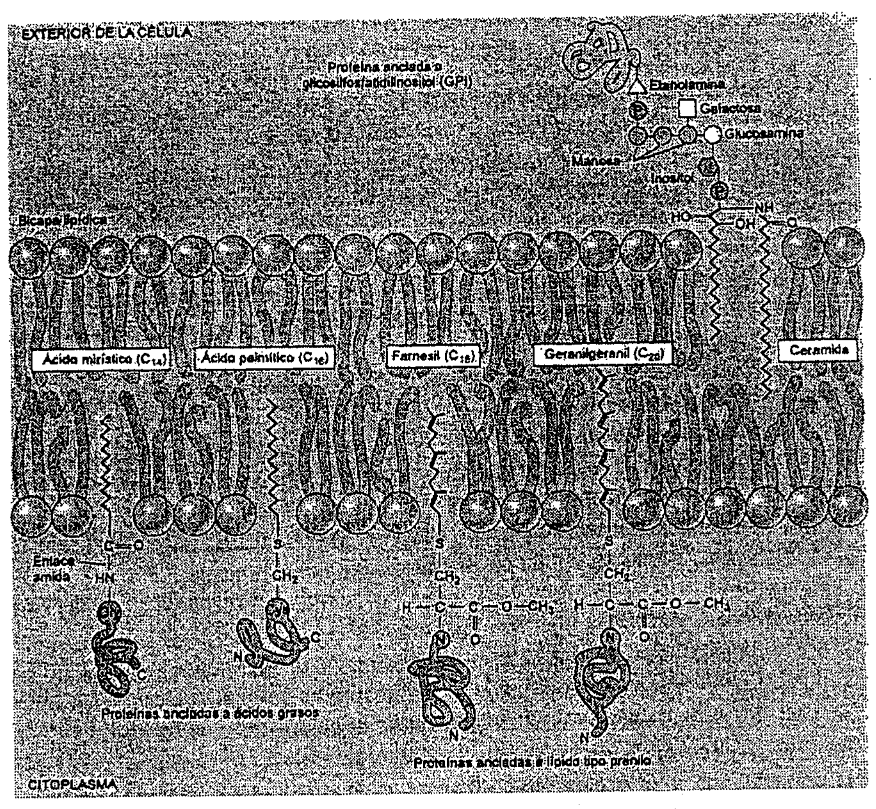


Figura 1.6 Diferentes tipos de proteínas ancladas a la membrana a través de ácidos grasos, grupos prenilo o fosfatidilinositol. (Según Buchanan y col. 2000.)

noma nuclear de plantas es muy variable, ya que oscila desde $1{,}2 \times 10^8$ pares de bases para la diminuta dicotiledónea *Arabidopsis thaliana* hasta 1×10^{11} pares de bases para el lirio *Fritillaria assyriaca*. El resto de la información genética de la célula se encuentra en dos orgánulos semiautónomos (el cloroplasto y la mitocondria), y se analizará más adelante en este capítulo.

El núcleo está rodeado por una doble membrana llamada **envoltura nuclear** (Figura 1.7A). El espacio entre las dos membranas de la envoltura nuclear se denomina **espacio perinuclear** y las dos membranas de la envoltura nuclear están fusionadas en unos puntos llamados **poros nucleares** (Figura 1.7B). En realidad, el «poro» nuclear es una estructura compleja compuesta por más de cien proteínas diferentes organizadas octogonalmente y que forman el **complejo del poro nuclear** (Figura

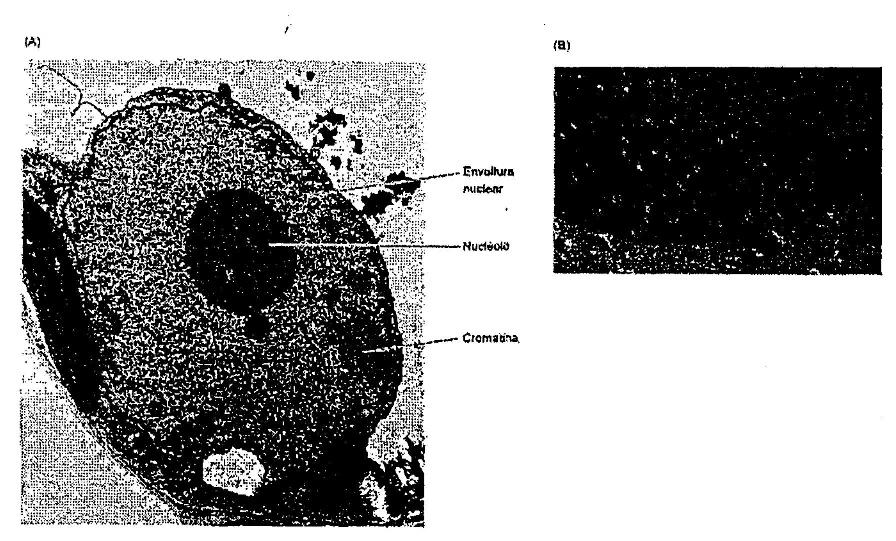


Figura 1.7 (A) Micrografía electrónica de transmisión de una célula vegetal que muestra el nucléolo y la membrana nuclear. (B) Preparación por criofractura de poros nucleares de una célula apical de raíz de cebolla. (A gentileza de R. Evert; B gentileza de D. Branton.)

1.8). La cantidad de complejos de poros nucleares puede variar desde unos pocos a muchos miles de ellos en la envoltura nuclear. El complejo actúa como un transportador activo (impulsado por ATP) que facilita el movimiento de macromoléculas y subunidades ribosómicas de entrada y salida del núcleo. (El transporte activo se analizará con detalle en el capítulo 6.) Se necesita una secuencia de aminoácidos específica denominada señal de localización nuclear para que una proteína consiga entrar en el núcleo.

El núcleo es el lugar de almacenamiento y replicación de los **cromosomas**, formados por DNA y proteínas asociadas. En conjunto, al complejo DNA-proteínas se le conoce como **cromatina.** La longitud lineal de todo el DNA del genoma de una planta es habitualmente millones de veces más grande que el diámetro del núcleo en el que se encuentra. Para solucionar el problema del empaquetamiento de este DNA cromosómico en el núcleo, los segmentos de la doble hélice lineal de DNA se enrollan 2 veces alrededor de un cilindro sólido formado por 8 moléculas de unas proteínas llamadas **histonas**, constituyendo el **nucleosoma**. Los nucleosomas se encuentran ordenados como cuentas de un collar a lo largo de cada cromosoma.

Durante la mitosis, la cromatina se condensa, enrollándose de manera compacta y formando una **fibra de cromatina de 30 nm,** con seis nucleosomas por vuelta. A este enrollamiento le siguen procesos de plegamiento y empaquetamiento que dependen de las interacciones entre proteínas y ácidos nucleicos (Figura 1.9). En la

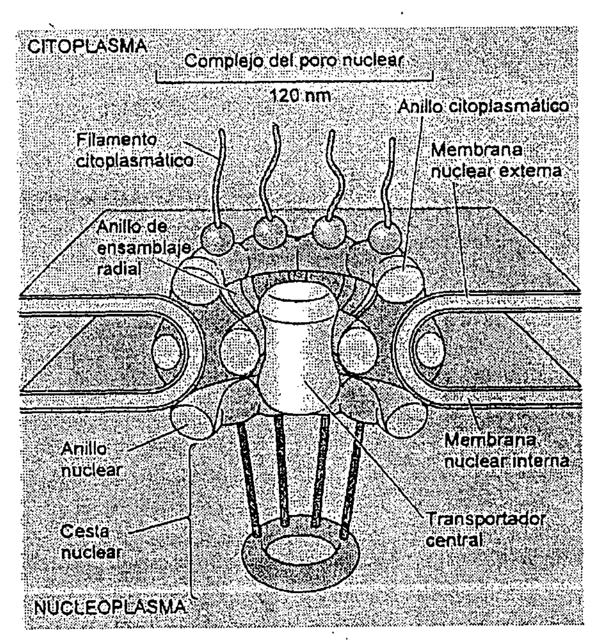


Figura 1.8 Esquema de la estructura del complejo del poro nuclear. Los anillos paralelos están formados por ocho subunidades ordenadas octogonalmente cerca de las membranas externa e interna de la envoltura nuclear. Varias proteínas forman las otras estructuras, como el anillo nuclear, el anillo de ensamblaje, el transportador central, los filamentos citoplásmicos y la cesta nuclear.

interfase son visibles dos tipos de cromatina: la heterocromatina y la eucromatina. Cerca de un 10 % del DNA es **heterocromatina**, una forma de cromatina altamente compactada y transcripcionalmente inactiva. El resto del DNA es **eucromatina,** una forma dispersa y transcripcionalmente activa. Sólo el 10 % de la eucromatina está activo transcripcionalmente en un momento dado. El resto se encuentra en un estado intermedio de condensación, entre la heterocromatina y la eucromatina transcripcionalmente activa.

Los núcleos contienen una región granular densa llamada **nucléolo,** que es el lugar de síntesis de los ribosomas (véase la figura 1.7A). El nucléolo incluye partes de uno o más cromosomas donde los genes de los RNA ribosómicos (rRNA) están agrupados para formar una estructura llamada **organizador nucleolar**. Normalmente las células tienen uno o más nucléolos por núcleo. Cada ribosoma 80S está formado por una subunidad grande y una pequeña, y cada subunidad es un complejo agregado de rRNA y proteínas específicas. Las dos subunidades salen del núcleo por separado, a través del poro nuclear, y se unen en el citoplasma para formar el ribosoma

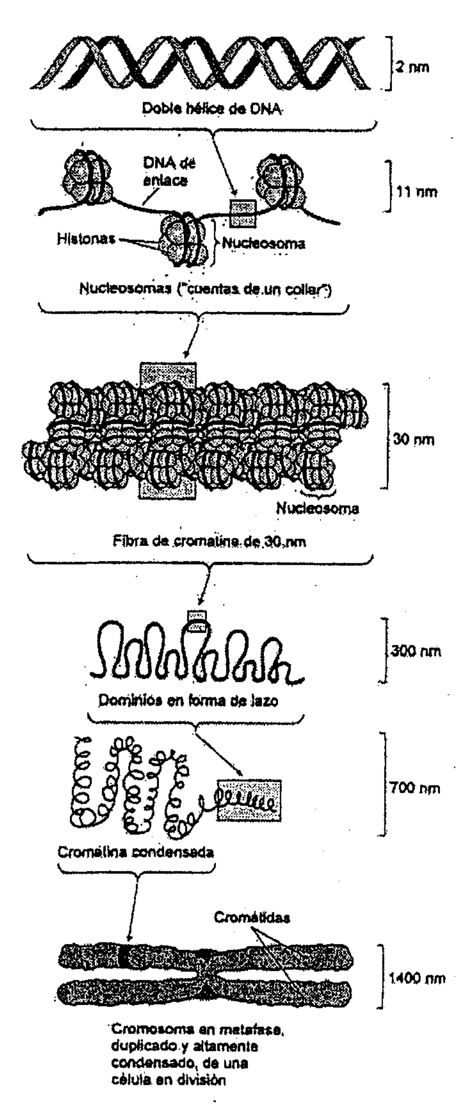


Figura 1.9 Empaquetamiento del DNA en un cromosoma metafásico. Primero el DNA se agrega en nucleosomas y luego éstos se condensan para formar las fibras de cromatina de 30 nm. Los enrollamientos posteriores darán lugar al cromosoma condensado de la metafase. (Según Alberts y col. 2002.)

completo (Figura 1.10A). Los **ribosomas** son los orgánulos donde se realiza la síntesis de las proteínas.

La síntesis proteica implica la transcripción y la traducción

El complejo proceso de la síntesis de proteínas se inicia con la **transcripción** (la síntesis de un polímero de RNA que contiene una secuencia de bases complementarias a un gen específico). El transcrito de RNA se procesa para dar lugar al RNA mensajero (mRNA), que pasa del núcleo al citoplasma. En el citoplasma el mRNA se une primero a la subunidad pequeña del ribosoma y luego a la subunidad grande para iniciar la traducción.

La **traducción** es el proceso por el cual se sintetiza una proteína específica a partir de los aminoácidos, empleando la información de la secuencia codificada por el mRNA. El ribosoma se desplaza a lo largo de todo el mRNA y actúa como lugar de unión secuencial de aminoácidos tal y como se especifica en la secuencia de bases del mRNA (Figura 1.10B).

El retículo endoplásmico es la principal red de membranas internas

Las células tienen una elaborada red de membranas internas llamada **retículo endoplásmico (RE)**. Las membranas del RE son una bicapa lipídica típica con

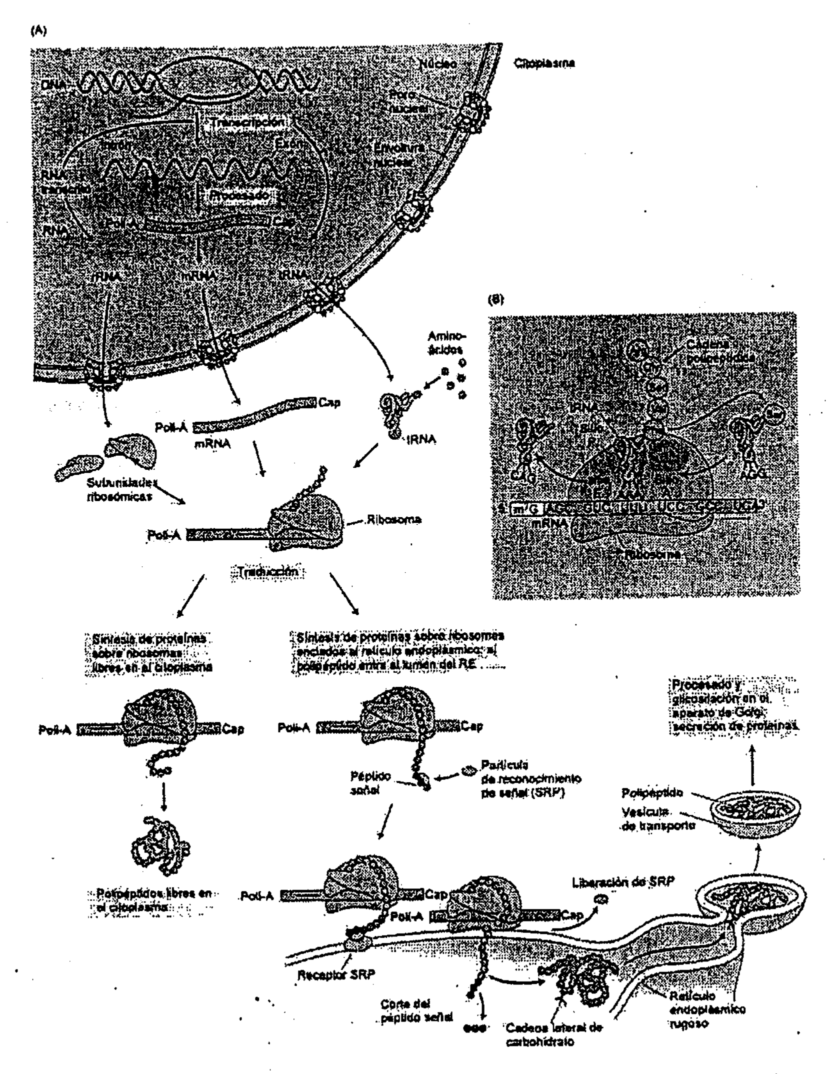


Figura 1.10 (A) Principales etapas implicadas en la expresión génica, transcripción, procesado, exportación al citoplasma y traducción. Las proteínas pueden ser sintetizadas en ribosomas libres o asociados. Las proteínas secretadas que contienen un péptido señal hidrofóbico se unen a la partícula de reconocimiento de señal (SRP) en el citosol. El complejo ribosoma-SRP se traslada al retículo endoplásmico, donde se ancla al receptor de la SRP. Entonces se produce la traducción y el péptido en crecimiento se introduce en el lumen del retículo endoplásmico. El péptido señal se corta, se añaden los azúcares y la glicoproteína es transportada en vesículas al aparato de Golgi. (B) Los aminoácidos son polimerizados en los ribosomas, con ayuda del tRNA, para formar la cadena polipeptídica creciente. *cap* = caperuza.

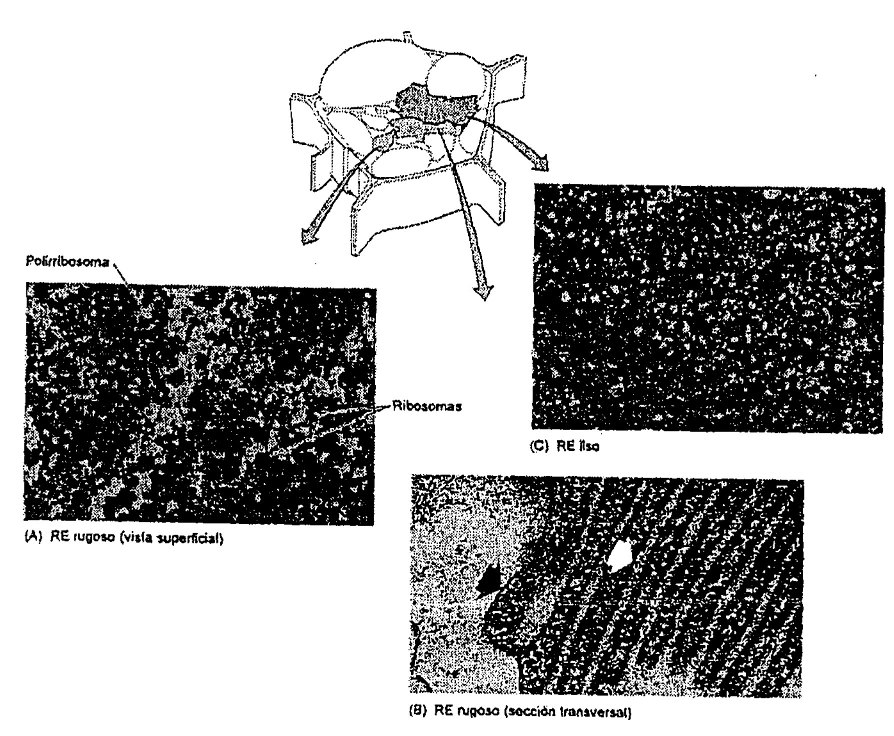


Figura 1.11 El retículo endoplásmico. (A) En esta micrografía del alga *Bulbochaete* se muestra una vista superficial del RE rugoso. Los polirribosomas (cadenas de ribosomas unidas al RNA mensajero) son claramente visibles en el RE rugoso. Los polirribosomas también se encuentran en la superficie externa de la envoltura nuclear (75.000×). (B) Empaquetamiento regular del retículo endoplásmico rugoso (flecha blanca) en los tricomas glandulares de *Coleus blumei*. La membrana plasmática se indica con una flecha negra y el material exterior a la membrana plasmática es la pared celular (75.000×). (C) El RE liso forma con frecuencia una red tubular, como se muestra en esta micrografía electrónica de transmisión de un pétalo joven de *Primula kewensis* (45.000×). (Fotos de Gunning y Steer 1996.)

proteínas integrales y proteínas periféricas. Estas membranas forman sáculos aplanados o tubulares llamados **cisternas.**

Los estudios ultraestructurales han mostrado que el RE forma un continuo con la membrana externa de la envoltura nuclear. Hay dos tipos de RE, el liso y el rugoso (Figura 1.11) y los dos tipos están interconectados. El **RE rugoso (RER)** se diferencia del RE liso en que está cubierto de ribosomas que están implicados activamente en la síntesis de proteínas; además, el RE rugoso tiende a ser laminar (una hoja plana compuesta por dos unidades de membranas), mientras que el RE liso tiende a ser tubular, aunque en casi todas las células se observa una gradación de cada tipo de RE.

Las diferencias estructurales entre las dos formas de RE están acompañadas por diferencias funcionales. Las principales funciones del **RE liso** son la síntesis de lípidos y el ensamblaje de la membrana. El RE rugoso es el lugar de la síntesis de proteínas de membrana y de proteínas secretadas fuera de la célula o al interior de las vacuolas.

La secreción celular de proteínas se inicia en el RE rugoso

Las proteínas destinadas a la secreción cruzan la membrana del RER y entran en el lumen del RE. Éste es el primer paso de la ruta de secreción en la que están implicados el aparato de Golgi y las vesículas que se fusionan con la membrana plasmática.

El mecanismo de transporte a través de la membrana es complejo e implica a los ribosomas, al mRNA que codifica la proteína de secreción y a un receptor especial de la membrana del RE. Todas las proteínas de secreción y la mayoría de las proteínas integrales de membrana se caracterizan por tener una secuencia hidrofóbica de 18 a 30 aminoácidos en el extremo N-terminal de la cadena. Durante la traducción dicha cadena hidrofóbica, el **péptido señal,** es reconocida por la **partícula de reconocimiento de señal (SRP),** formada por proteínas y RNA, que facilita la unión de los ribosomas libres a las proteínas **receptoras de la SRP** (o proteínas de acoplamiento) sobre el RE (véase la figura 1.10A). El péptido señal media la transferencia del polipétido en crecimiento al lumen, a través de la membrana del RE. (En el caso de proteínas integrales de membrana, una parte del polipéptido completo permanece embebido en la membrana.)

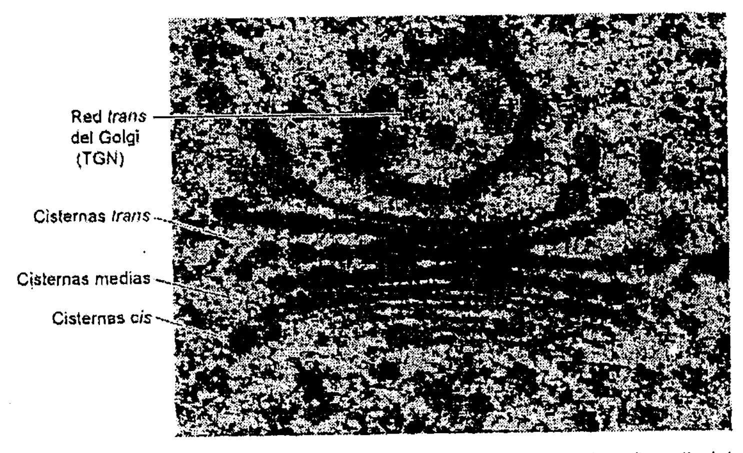


Figura 1.12 Micrografía electrónica del aparato de Golgi de una célula de la cofia radical de tabaco (*Nicotiana tabacum*). Se indican las vesículas *cis*, *media* y *trans*. La red *trans* del Golgi está asociada con las vesículas *trans* (60.000×). (Fotos gentileza de Gunning y Steer 1996.)

Una vez en el lumen del RE, una peptidasa de señal corta el péptido señal. En algunos casos, una cadena de oligosacáridos ramificada formada por N-acetilglucosamina (GlcNac), manosa (Man) y glucosa (Glc), con estequiometría $GlcNac_2Man_9Glc_3$, se une al grupo amino libre una asparagina específica. Este carbohidrato unido al grupo amino se denomina *glicano de unión a N* (Faye y col. 1992). Los tres residuos de glucosa terminales son entonces eliminados por glucosidasas específicas y la glicoproteína procesada (es decir, la proteína unida covalentemente a azúcares) está preparada para ser transportada al aparato de Golgi. Las llamadas **glicoproteínas unidas a N** son transportadas al aparato de Golgi a través de vesículas pequeñas. Las vesículas se mueven a través del citosol y se funden con las cisternas de la cara *cis* del aparato de Golgi (Figura 1.12).

Las proteínas y los polisacáridos de secreción son procesados en el aparato de Golgi

El **aparato de Golgi** (también llamado complejo de Golgi) de las células vegetales es una estructura dinámica formada por una o más unidades de 3 a 10 sáculos de membrana aplanadas, o cisternas, y una red irregular de túbulos y vesículas llamada **red *trans* del Golgi** (TGN) (véase la figura 1.12). Cada conjunto de cisternas se denomina **cuerpo de Golgi o dictiosoma.**

Como se ve en la figura 1.12, el aparato de Golgi tiene diferentes regiones funcionales: las cisternas más próximas a la membrana plásmatica se denominan cara *trans* y las cisternas más próximas al centro de la célula forman la cara *cis*. Las cisternas *medias* están entre las cisternas *trans* y *cis*. La red *trans del Golgi* se encuentra en la cara *trans*. La estructura completa está estabilizada por la presencia de **elementos intercisternas,** que son proteínas entrecruzadas que mantienen juntas las cisternas. Mientras que en las células animales los dictiosomas tienden a agruparse en una parte de la célula y están interconectadas a través de túbulos, las células vegetales contienen varios cientos de dictiosomas aparentemente separados y dispersos por todo el citoplasma (Driouich y col. 1994).

El aparato de Golgi desempeña una función esencial en la síntesis y secreción de polisacáridos complejos (polímeros formados por diferentes tipos de azúcares) y en el ensamblaje de cadenas laterales de los oligosacáridos de las glicoproteínas (Driouich y col. 1994). Como ya dijimos anteriormente, las cadenas polipéptídicas de las futuras glicoproteínas son sintetizadas en primer lugar en el RE rugoso, transportadas a continuación a través de la membrana del RE y glicosiladas en los grupos $-NH_2$ de residuos de asparagina. Las posteriores modificaciones y adiciones de cadenas laterales de oligosacáridos se llevan a cabo en el aparato de Golgi. Las glicoproteínas destinadas a la secreción pueden alcanzar el Golgi a través de las vesículas que salen del RER.

La ruta exacta de las glicoproteínas a través del aparato de Golgi vegetal todavía no se conoce. Dado que no parece haber una continuidad directa de la membrana entre cisternas sucesivas, el contenido de cada cisterna es transferido a la siguiente a través de pequeñas vesículas formadas en los extremos, como ocurre en el aparato de Golgi de los animales. Sin embargo, cada vez hay más evidencias que sugieren que pueden progresar cisternas enteras a través del aparato de Golgi y emerger en la cara *trans*.

Dentro de las cisternas del aparato de Golgi las glicoproteínas se modifican enzimáticamente. Ciertos azúcares, como la manosa, se eliminan de la cadena de los oligosacáridos y se añaden otros. Además de estas modificaciones, en el aparato de Golgi también se produce la glicosilación de los grupos –OH de residuos de la hidroxiprolina, la serina, la treonina y la tirosina (**oligosacáridos unidos por O**). Tras el procesado en el aparato de Golgi, las glicoproteínas abandonan el orgánulo en otras vesículas, típicas de la cara *trans*. Todo este proceso parece proporcionar a cada proteína una marca o señal específica que marcará su último destino, dentro o fuera de la célula.

En las células vegetales, el aparato de Golgi es muy importante para la formación de la pared celular (véase el capítulo 15). También en el aparato de Golgi son sintetizados los polisacáridos no celulósicos de la pared celular (hemicelulosa y pectina) y se procesa una gran variedad de glicoproteínas, incluidas las glicoproteínas ricas en hidroxiprolina.

Las **vesículas secretoras** derivadas del aparato de Golgi transportan polisacáridos y glucoproteínas a la membrana plasmática: las vesículas se fusionan con la membrana plasmática y vacían su contenido en la región de la pared celular. Las vesículas secretoras pueden ser lisas o estar recubiertas por proteínas. Las vesículas que se desprenden del RE son generalmente lisas. La mayoría de las vesículas que se desprenden del aparato de Golgi está cubierta por distintos tipos de proteínas. Estas proteínas ayudan en el proceso de separación durante la formación de la vesícula. Las vesículas implicadas en el trayecto desde el RE al aparato de Golgi, entre los compartimentos del Golgi y desde el aparato de Golgi hasta la TGN tienen **cubiertas proteicas.** Las **vesículas recubiertas de clatrina** (Figura 1.13) están implicadas en el transporte de proteínas de reserva desde el Golgi a las vacuolas especializadas en almacenar proteínas. También participan en la **endocitosis,** el proceso que lleva al interior de la célula las proteínas solubles y las unidas a la membrana.

La vacuola central contiene agua y solutos

Las células vegetales adultas vivas contienen vacuolas centrales llenas de agua que ocupan entre el 80 y el 90 % del volumen total de la célula (véase la figura 1.4).

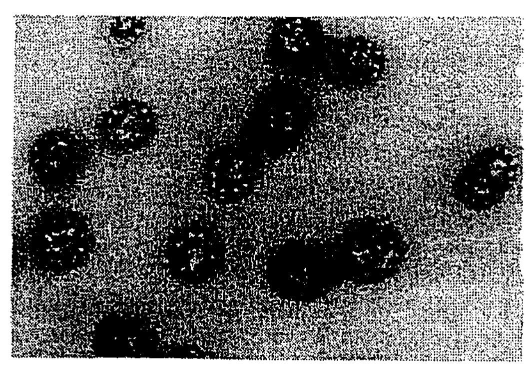


Figura 1.13 Preparación de vesículas recubiertas de clatrina aisladas de hojas de judía (102.000×). (Foto gentileza de D. G. Robinson.)

Cada vacuola está rodeada por una **membrana vacuolar** o **tonoplasto**. Muchas células tienen también bandas citoplásmicas que atraviesan la vacuola, pero cada una de ellas está rodeada por el tonoplasto.

En los tejidos meristemáticos las vacuolas son menos prominentes, aunque están siempre presentes como pequeñas **provacuolas**. Las provacuolas se producen en la **red *trans* del *Golgi*** (véase la figura 1.12). A medida que la célula madura, las provacuolas se fusionan para dar lugar a la gran vacuola central característica de la mayoría de las células vegetales maduras. En estas células, el citoplasma se reduce a una fina capa alrededor de la vacuola.

La vacuola contiene agua e iones inorgánicos, ácidos orgánicos, azúcares, enzimas y una gran variedad de metabolitos disueltos (véase el capítulo 13) que participan con frecuencia en diferentes funciones de defensa de la planta. La acumulación activa de solutos crea un flujo osmótico que dirige la incorporación de agua a la vacuola, necesaria para la elongación de la célula vegetal. La presión de turgencia generada por la entrada de agua proporciona la rigidez estructural necesaria para mantener erguidas las plantas herbáceas, dado que éstas carecen de los tejidos de soporte lignificados presentes en las plantas leñosas.

Como los lisosomas animales, las vacuolas vegetales contienen enzimas hidrolíticos, que incluyen proteasas, ribonucleasas y glucosidasas. Sin embargo, a diferencia de los lisosomas animales, las vacuolas vegetales no participan en la renovación de las macromoléculas a lo largo de la vida de la célula. En cambio, sus enzimas degradativos se filtran al citosol cuando se inicia la senescencia, de forma que ayudan a reciclar los nutrientes beneficiosos para la parte viva de la planta.

Las vacuolas especializadas en la reserva de proteínas se denominan **cuerpos proteicos** y son abundantes en las semillas. Durante la germinación, las proteínas de reserva de los cuerpos proteicos son hidrolizadas a aminoácidos y exportadas al citoplasma

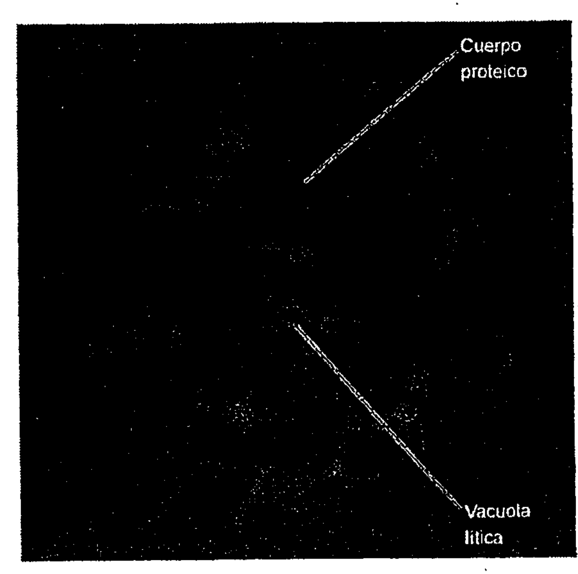


Figura 1.14 Micrografía de una preparación de protoplastos de la capa de aleurona de la semilla. Los tintes fluorescentes revelan dos tipos de vacuolas: los grandes cuerpos proteicos (V_1) y las pequeñas vacuolas líticas (V_2). (Foto gentileza de P. Bethke y R. L. Jones.)

para ser utilizadas en la síntesis proteica. Los enzimas hidrolíticos se almacenan en **vacuolas líticas** especializadas que se fusionan con los cuerpos proteicos para iniciar el proceso de ruptura (Figura 1.14).

Las mitocondrias y los cloroplastos son lugares de conversión de energía

En una célula vegetal típica hay dos tipos de orgánulos productores de energía: las mitocondrias y los cloroplastos. Ambos se encuentran separados del citosol por una doble membrana (una exterior y una interior). Las **mitocondrias** son los lugares celulares donde se realiza la respiración, un proceso por el que la energía liberada en el metabolismo de los azúcares se utiliza para la síntesis de ATP (adenosina trifosfato) a partir de ADP (adenosina difosfato) y de fosfato inorgánico (P_i) (véase el capítulo 11).

Las mitocondrias tienen una forma que puede variar de esférica a tubular, pero todas ellas constan de una membrana externa lisa y una membrana interna con numerosas invaginaciones (Figura 1.15). Las invaginaciones de la membrana interna se denominan **crestas**. El compartimento delimitado por la membrana interna se deno-

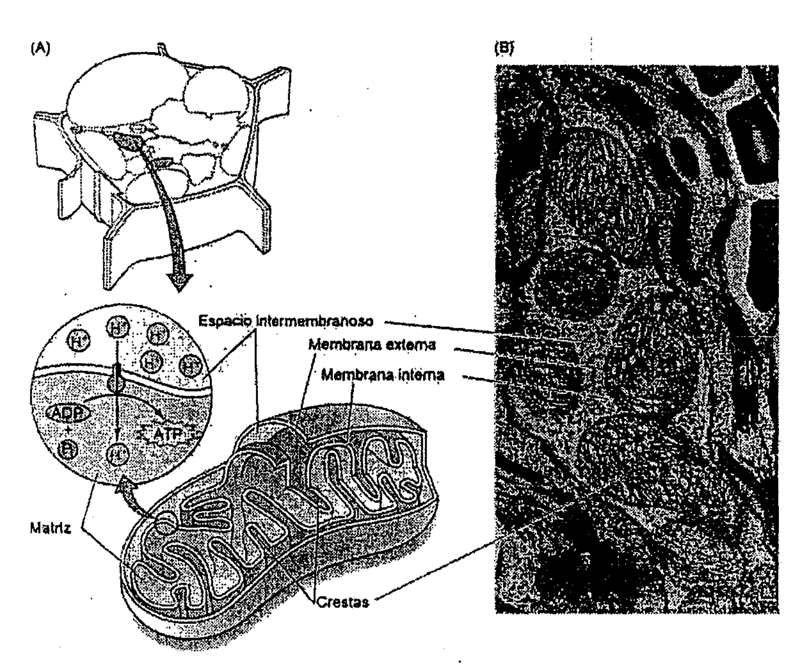


Figura 1.15 (A) Esquema de una mitocondria, incluida la localización en la membrana interna de las H^+-ATPasas implicadas en la síntesis de ATP. (B) Micrografía electrónica de una mitocondria de una célula de hoja de grama, *Cynodon dactylon* (26.000×). (Foto de E. Frederick, gentileza de E. H. Newcomb.)

mina **matriz mitocondrial** y contiene los enzimas de la ruta del metabolismo intermediario, denominado ciclo de Krebs.

A diferencia de la membrana mitocondrial externa y del resto de membranas celulares, la membrana mitocondrial interna contiene un 70 % de proteínas y algunos fosfolípidos que son específicos del orgánulo (por ejemplo, la cardiolipina). Las proteínas presentes dentro y fuera de la membrana interna tienen capacidades enzimáticas y de transporte especiales.

La membrana interna es muy impermeable al paso de H^+, es decir, actúa como barrera que impide el movimiento de protones. Esta característica es importante porque permite la formación de gradientes electroquímicos. La disipación de dicho gradiente, por el movimiento controlado de H^+ a través del enzima transmembrana **ATP sintasa**, se acopla a la fosforilación del ADP para formar ATP. Este ATP puede cederse a otras partes de la célula donde se necesite energía para impulsar reacciones específicas.

Los cloroplastos (Figura 1.16A) son miembros de otro grupo de orgánulos limitados por doble membrana que se denominan **plastos**. Las membranas de los cloro-

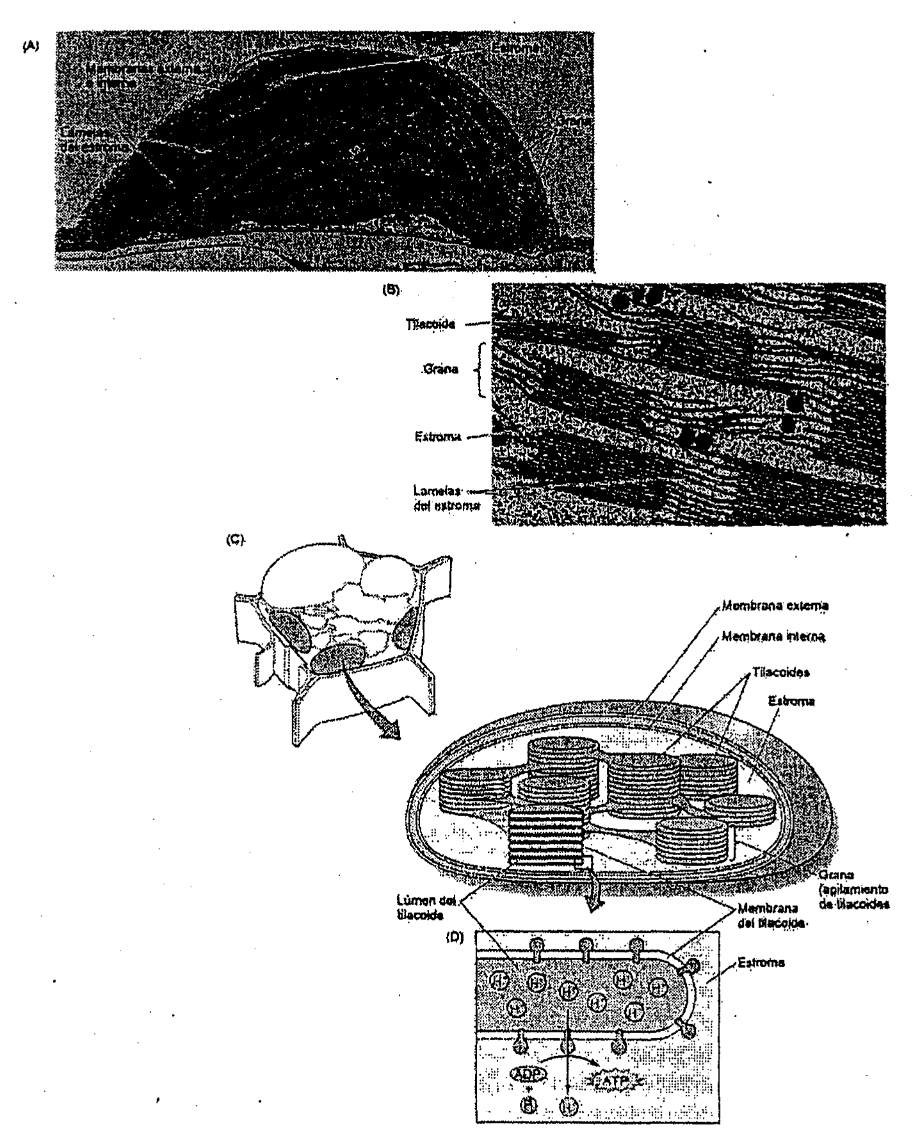


Figura 1.16 (A) Micrografía electrónica de un cloroplasto de hoja de hierba timotea, *Phleum pratense* (18.000×). (B) La misma preparación a mayor resolución (52.000×). (C) Visión tridimensional de los apilamientos de tilacoides (grana) y las lamelas del estroma, donde se muestra la complejidad de su organización. (D) Esquema de un cloroplasto, mostrando la localización de las H^+-ATPasas en la membrana de los tilacoides. (Micrografía de W. P. Wergin; gentileza de E. H. Newcomb.)

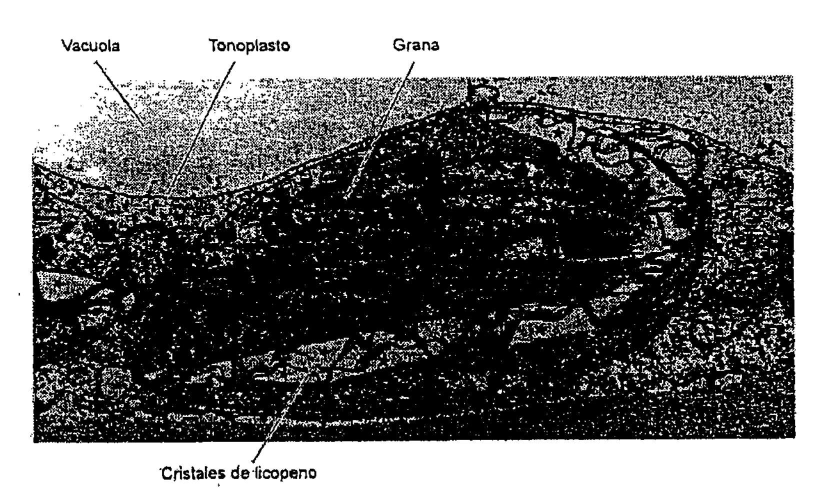


Figura 1.17 Micrografía electrónica de un cromoplasto de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en un estado temprano en la transición de cloroplasto a cromoplasto. Son visibles todavía los pequeños apilamientos de los tilacoides. Los cristales del carotenoide licopeno se indican con estrellas (27.000×). (Tomado de Gunning y Steer 1996.)

plastos son ricas en glicosilglicéridos (véase el **tema web 1.4**). Las membranas de los cloroplastos contienen clorofila asociada a proteínas, y constituyen el lugar donde se realiza la fotosíntesis. Además de la membrana interna y externa, los cloroplastos tienen un tercer sistema de membranas, llamadas **tilacoides**. El **apilamiento** de tilacoides forma los **grana** (Figura 1.16B). Las proteínas y pigmentos (clorofilas y carotenoides) que participan en los acontecimientos fotoquímicos de la fotosíntesis están embebidos en la membrana tilacoidal. El compartimento fluido alrededor de los tilacoides, llamado **estroma**, es equivalente a **la** matriz mitocondrial. Los grana adyacentes están interconectados por tilacoides no apilados denominados tilacoides estromáticos.

Los diferentes componentes del aparato fotosintético se encuentran localizados en diferentes zonas de los grana y de las lamelas del estroma. Las ATP sintasas de los cloroplastos se encuentran localizadas en las membranas de los tilacoides (Figura 1.16C). Durante la fotosíntesis, las reacciones de transferencia de electrones promovidas por la luz dan lugar a un gradiente de protones a través de la membrana del tilacoide. Como en la mitocondria, se sintetiza ATP cuando el gradiente de protones es disipado a través de la ATP sintasa.

Los plastos que contienen altas concentraciones de pigmentos carotenoides más que de clorofilas se denominan **cromoplastos** y son una de las causas de los colores amarillo, naranja o rojo de muchas frutas y flores, así como de las hojas en otoño (Figura 1.17).

Los plastos que carecen de pigmentos se denominan **leucoplastos**. Los más importantes son los **amiloplastos**, que son los plastos que almacenan el almidón. Los amiloplastos son abundantes en los tejidos de reserva del vástago, de la raíz y de las semillas. Los amiloplastos especializados de la cofia radical también sirven como sensores gravimétricos para dirigir el crecimiento de la raíz hacia el suelo (véase el capítulo 19).

Las mitocondrias y los cloroplastos son orgánulos semiautónomos

Tanto las mitocondrias como los cloroplastos contienen su propio DNA y la maquinaria para sintetizar proteínas (ribosomas, RNA de transferencia y otros componentes) y se cree que han evolucionado a partir de bacterias endosimbióticas. Los dos orgánulos se dividen por fisión y las mitocondrias pueden realizar una fusión extensiva para formar estructuras alargadas o redes. El DNA de estos orgánulos se presenta en forma de cromosomas circulares, muy similares a los de las bacterias y muy diferentes de los cromosomas lineales presentes en el núcleo. Estos DNA circulares se encuentran en una región específica de la matriz mitocondrial o del estroma del plasto y se denominan **nucleoides**. La replicación del DNA de la mitocondria y del cloroplasto es independiente de la replicación del DNA nuclear. Por otro lado, el número de estos orgánulos en un determinado tipo de célula suele ser más o menos constante, lo que sugiere que algunos aspectos de la replicación del orgánulo están bajo regulación celular.

El genoma mitocondrial de las plantas consta de unos 200 pares de kilobases (200.000 pares de bases), un tamaño considerablemente superior al de la mayoría de las mitocondrias animales. Las mitocondrias de las células meristemáticas suelen ser poliploides, es decir, contienen múltiples copias del cromosoma circular. Sin embargo, el número de copias por mitocondria disminuye gradualmente a medida que las células maduran debido a que la mitocondria continua dividiéndose sin sintetizar DNA.

La mayoría de las proteínas codificas por el genoma mitocondrial son proteínas ribosomales 70S, típicas de células procariotas, y componentes del sistema de transferencia de electrones. La mayoría de las proteínas mitocondriales, incluidos los enzimas del ciclo de Krebs, son codificadas por genes nucleares y se importa desde el citosol.

El genoma del cloroplasto es más pequeño que el genoma mitocondrial, tiene unos 145 pares de kilobases (145.000 pares de bases). Mientras que las mitocondrias son poliploides sólo en los meristemos, los cloroplastos llegan a ser poliploides durante la maduración celular. Así, la cantidad media de DNA por cloroplasto en la planta es mucho mayor que el de la mitocondria. La cantidad total de DNA de la mitocondria y del plasto combinados es aproximadamente un tercio de la del genoma nuclear (Gunning y Steer 1996).

El DNA del cloroplasto codifica el rRNA, el RNA de transferencia (tRNA), la subunidad grande del enzima que fija el CO_2, la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) y algunas de las proteínas que participan en la fotosíntesis. Sin embargo, la mayoría de las proteínas del cloroplasto así como las de las mitocondrias, son codificadas por genes nucleares, sintetizadas en el citosol y transportadas al orgánulo. Aunque las mitocondrias y los cloroplastos tienen sus propios genomas y se pueden dividir independientemente de la célula, se caracterizan por ser *orgánulos semiautónomos* porque dependen del núcleo para la síntesis de la mayoría de sus proteínas.

Los diferentes tipos de plastos son interconvertibles

Las células meristemáticas contienen **proplastos**, que tienen pocas o ninguna membrana interna y no contienen clorofila ni algunos de los enzimas necesarios para la fotosíntesis (Figura 1.18.A). En angiospermas y algunas gimnospermas, el desarrollo de los cloroplastos a partir de proplastos es desencadenado por la luz. Bajo iluminación se forman los enzimas en el interior del proplasto o se importan desde el citosol, se producen los pigmentos que absorben la luz y proliferan rápidamente las membranas, formando las lamelas del estroma y los grana (Figura 1.18B).

Las semillas suelen germinar en el suelo sin luz y los cloroplastos se desarrollan sólo cuando el vástago queda expuesto a la luz. Si las semillas germinan en oscuridad los proplastos se diferencian en **etioplastos**, que contienen una agrupación tubular semicristalina de membrana conocida como **cuerpo prolamelar** (Figura 1.18 C). En lugar de clorofila, los etioplastos contienen un pigmento de color amarillo-verdoso, precursor de la **clorofila**, denominado protoclorofila

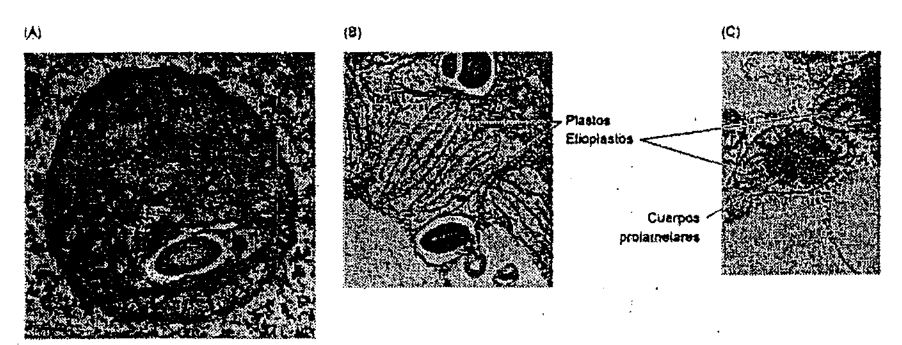


Figura 1.18 Micrografía electrónica que ilustra varios estadios del desarrollo de los plastos. (A) Vista a gran resolución de un proplasto del meristemo apical de la raíz de haba (*Vicia faba*). El sistema de endomembranas es rudimentario y no existen los grana (47.000×). (B) Célula de mesofilo de una hoja joven de avena en los primeros estadios de diferenciación por la luz. Los plastos están desarrollando los grana. (C) Una célula de una hoja joven de avena de una plántula creciendo en oscuridad. Los plastos se han desarrollado como etioplastos, con cuerpos semicristalinos de túbulos de membrana llamados cuerpos prolamelares. Cuando se exponen a la luz, los etioplastos se pueden convertir en cloroplastos al desorganizar los cuerpos prolamelares y formar los grana (7.200×). (Tomado de Gunning y Steer 1996.)

Tras unos minutos de exposición a la luz los etioplastos se diferencian, convirtiendo los cuerpos prolamelares en tilacoides y lamelas del estroma y la protoclorofila en clorofila. El mantenimiento de la estructura de los cloroplastos depende de la luz, y los cloroplastos maduros pueden revertir a etioplastos en periodos continuados de oscuridad.

Los cloroplastos pueden convertirse en cromoplastos, como ocurre en las hojas en otoño y durante la maduración de frutos; este proceso es reversible en algunos casos. Los amiloplastos pueden convertirse en cloroplastos, lo que explica por qué la exposición de las raíces a la luz suele provocar que las raíces adquieran color verde.

Los microcuerpos tienen funciones metabólicas especializadas en hojas y semillas

Las células vegetales también tienen **microcuerpos**, que son orgánulos esféricos limitados por una membrana simple y especializados en una función metabólica determinada. Los dos tipos principales de microcuerpos que hay son los peroxisomas y los glioxisomas.

Los **peroxisomas** se encuentran en todos los organismos eucariotas y en las plantas se encuentran en las células fotosintéticas (Figura 1.19). Los peroxisomas intervienen en la eliminación de hidrógeno de sustratos orgánicos, consumiendo oxígeno en el proceso, de acuerdo con la siguiente reacción:

$$RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$$

donde R es el sustrato orgánico. El peróxido producido en estas reacciones es potencialmente perjudicial y es descompuesto en los peroxisomas por el enzima catalasa, de acuerdo con la siguiente reacción:

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$$

Aunque parte del oxígeno es regenerado durante la reacción de la catalasa, se produce un consumo neto de oxígeno.

El otro tipo de microcuerpos, los **glioxisomas**, se encuentra en las semillas que almacenan aceites. Los glioxisomas contienen los enzimas del *ciclo del glioxilato*, que participan en la transformación de los ácidos grasos almacenados en azúcares, que pueden ser transportados a toda la planta joven para proporcionarle energía para el

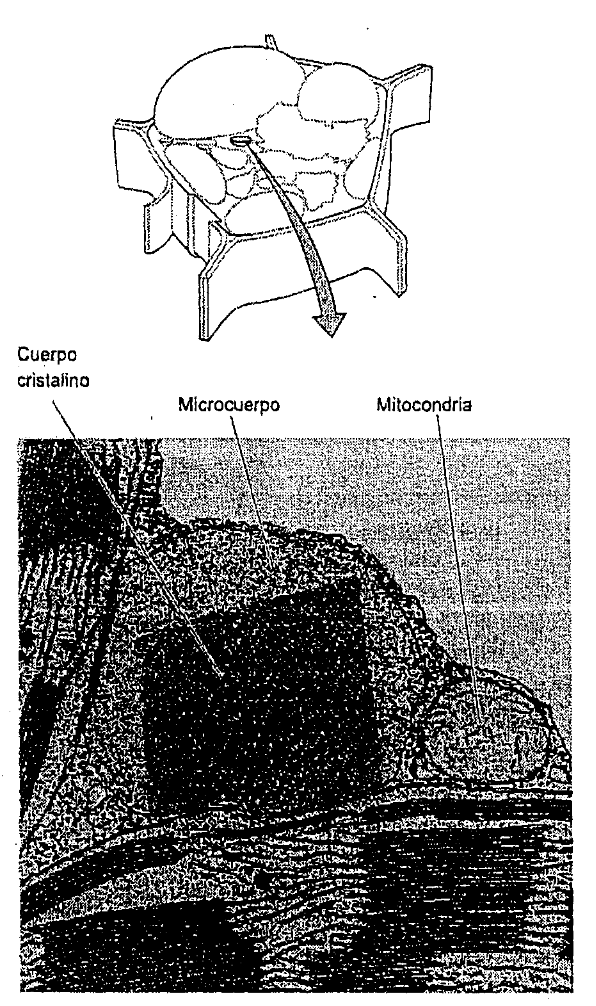


Figura 1.19 Micrografía electrónica de un peroxisoma de una célula de mesofilo en que se muestra un cuerpo cristalino (27.000×). El peroxisoma está estrechamente asociado con dos cloroplastos y una mitocondria, reflejando probablemente la función cooperativa de estos orgánulos en la fotorrespiración. (De Huang 1987.)

crecimiento (véase el capítulo 11). Debido a que los dos tipos de microcuerpos llevan a cabo reacciones oxidativas, se ha sugerido que podían haber evolucionado a partir de orgánulos respiratorios primitivos que habrían sido sustituidos por las mitocondrias.

Los oleosomas son los orgánulos de reserva de lípidos

Además del almidón y las proteínas, durante el desarrollo de la semilla, muchas plantas sintetizan y almacenan grandes cantidades de triacilgliceroles en forma de aceites. Estos aceites se acumulan en unos orgánulos llamados **oleosomas**, también conocidos como *cuerpos lipídicos* o esferosomas (Figura 1.20A).

Los oleosomas son los únicos orgánulos que están rodeados por «media unidad de membrana», es decir, una monocapa de fosfolípidos, derivada del RE (Harwood 1997). Los fosfolípidos de esta semimembrana están orientados con sus cabezas polares hacia la fase acuosa y sus colas hidrofóbicas al lumen, disueltas en los lípidos almacenados. Se cree que los oleosomas proceden de la deposición de lípidos en la propia bicapa (Figura 1.20B).

En la semimembrana podemos encontrar unas proteínas llamadas **oleosinas** (véase la figura 1.20B). Una de las funciones de las oleosinas puede ser mantener cada oleosoma como un orgánulo independiente, evitando su fusión. Las oleosinas también pueden ayudar a otras proteínas a unirse a la superficie del orgánulo. Como hemos dicho anteriormente, durante la germinación de la semilla se hidrolizan los lípidos de los oleosomas y se convierten en sacarosa con la ayuda del glioxisoma. El primer paso de este proceso es la hidrólisis de las cadenas de ácidos grasos del esqueleto de glicerol por parte del enzima lipasa. La lipasa está fuertemente asociada a la superficie de la semimembrana y puede estar unida a oleosinas.

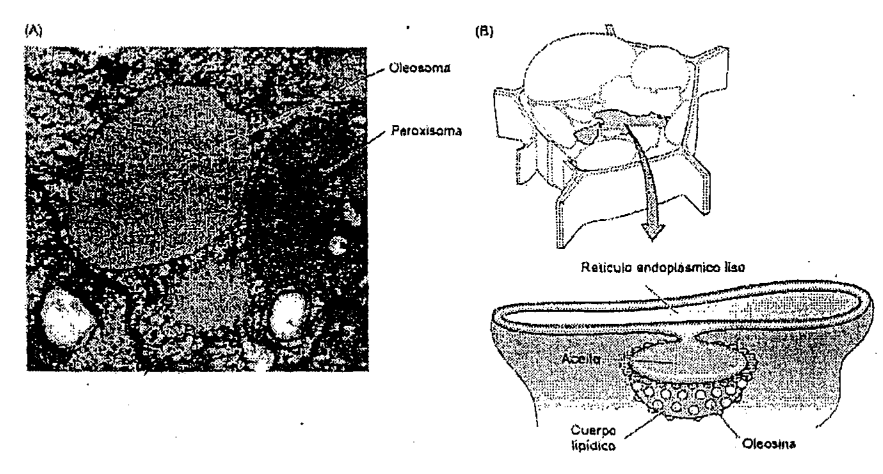


Figura 1.20 (A) Micrografía electrónica de un oleosoma junto a un peroxisoma. (B) Esquema que muestra la formación de oleosomas por síntesis y depósito de lípidos en la bicapa de fosfolípidos del RE. Después de separarse del RE, el oleosoma se rodea de una monocapa de fosfolípidos que contiene la proteína oleosina. (A de Huang 1987; B de Buchanan y col. 2000.)

EL CITOESQUELETO

El citosol está organizado dentro de una red tridimensional de proteínas filamentosas denominada **citoesqueleto**. Esta red proporciona una organización espacial a los orgánulos y contribuye a su movimiento y el de otros componentes del citoesqueleto. También juega un papel fundamental en la mitosis, meiosis, citocinesis, en la formación de la pared celular, en el mantenimiento de la forma celular y en la diferenciación celular.

Las células vegetales contienen microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios

En las células vegetales se ha demostrado la existencia de tres tipos de elementos citoesqueléticos: los microtúbulos, los microfilamentos y unas estructuras similares a los filamentos intermedios. Todos estos elementos son filamentosos, con diámetro fijo y longitud variable que puede llegar a ser de muchos micrómetros.

Los microtúbulos y microfilamentos son ensamblajes macromoleculares de proteínas globulares. Los **microtúbulos** son cilindros huecos con un diámetro exterior de 25 nm, y están formados por polímeros de la proteína **tubulina**. Un monómero de tubulina de un microtúbulo es un heterodímero formado por dos cadenas polipeptídicas similares (a- b-tubulina), cada una con una masa molecular aparente de unos 55.000 daltons (Figura 1.21A). Un único microtúbulo está formado por cientos de miles de monómeros de tubulina, normalmente ordenados en 13 columnas llamadas *protofilamentos*.

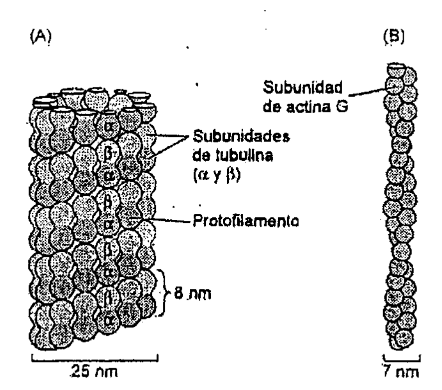


Figura 1.21 (A) Dibujo de un microtúbulo visto longitudinalmente. Cada microtúbulo está formado por 13 protofilamentos. Se muestra la organización de las subunidades α y β. (B) Esquema de un microfilamento, con las dos cadenas de subunidades de actina G.

Los **microfilamentos** son macizos y tienen un diámetro de 7 nm; están formados por una forma especial de una proteína del músculo: la actina globular o **actina G**. Cada molécula de actina está formada por un único polipéptido de aproximadamente 42.000 daltons de masa molecular. Un microfilamento está formado por dos cadenas de subunidades de actina polimerizadas que se enrollan en forma helicoidal (Figura 1.21B).

Los **filamentos intermedios** constituyen un grupo diverso de elementos fibrosos helicoidales de 10 nm de diámetro. Los

filamentos intermedios están formados por monómeros polipeptídicos lineales de varios tipos. En las células animales, por ejemplo, las **láminas nucleares** están formadas por un monómero polipeptídico específico, mientras que las **queratinas**, un tipo de filamento intermedio que se encuentra en el citoplasma, están compuestas por otro monómero polipeptídico diferente.

En los filamentos intermedios de los animales, los monómeros emparejados paralelamente con la misma orientación (alineados con sus grupos $-NH_2$ en el mismo extremo) están enrollados helicoidalmente uno alrededor del otro. Dos dímeros se alinean entonces de forma antiparalela (con sus grupos $-NH_2$ en lados opuestos) para formar una unidad tetramérica. Las unidades tetraméricas se unen para formar el filamento intermedio final (Figura 1.22).

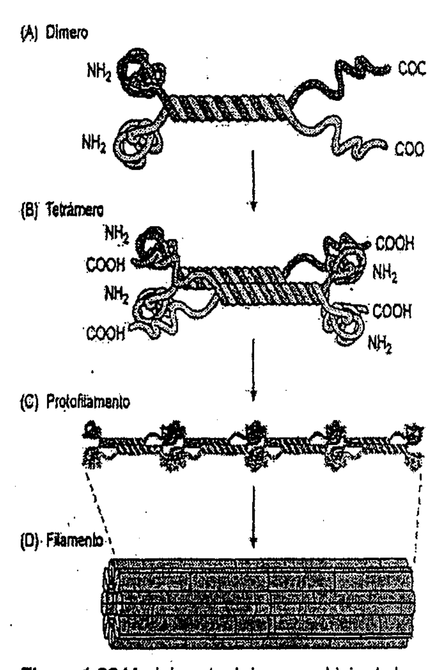


Figura 1.22 Modelo actual de ensamblaje de los filamentos intermedios a partir de monómeros de proteína. (A) Dímero enrollado en orientación paralela (es decir, con los grupos aminos y carboxilos terminales en el mismo extremo). (B) Un tetrámero formado por dos dímeros. Obsérvese que los dos dímeros están orientados de forma antiparalela y uno está ligeramente desplazado respecto al otro. (C) Dos tetrámeros. (D) Tetrámeros empaquetados para formar filamentos intermedios de 10 nm. (Según Alberts y col. 2002.)

Aunque las láminas nucleares parecen estar presentes en las células vegetales, no hay evidencias convincentes de la existencia de los filamentos intermedios de queratina en el citosol. Como mencionamos antes, las proteínas integrales de membrana conectan la membrana plasmática de las células vegetales con la rígida pared celular. Tales conexiones con la pared estabilizan indudablemente el protoplasto y le ayudan a mantener la forma celular. Así, la pared de la célula vegetal actúa como un exoesqueleto celular, quizás obviando la necesidad de filamentos intermedios similares a la queratina para proporcionar soporte estructural.

Los microtúbulos y microfilamentos pueden ensamblarse y desensamblarse

En la célula, los monómeros de actina y tubulina se encuentran como un conjunto de proteínas libres que están en un equilibrio dinámico con las formas polimeri-

zadas. La polimerización requiere energía: se necesita ATP para la polimerización de los microfilamentos y GTP (guanosina trifosfato) para la polimerización de los microtúbulos. Las uniones entre las subunidades en el polímero no son covalentes, pero son lo suficientemente fuertes como para mantener la estructura estable en condiciones celulares.

Tanto los microtúbulos como los microfilamentos están polarizados, es decir, sus dos extremos son diferentes. En los microtúbulos, la polaridad se deriva de la polaridad del heterodímero de α- y β-tubulina; en los microfilamentos, la polaridad es debida a la polaridad del propio monómero de actina. Los extremos opuestos de microtúbulos y microfilamentos se denominan *positivo* y *negativo* y la polimerización es más rápida en el extremo positivo.

Una vez formados, los microtúbulos y los microfilamentos pueden desorganizarse. La *velocidad* de todo el proceso de ensamblaje y desensamblaje de estas estructuras se ve afectada por las concentraciones relativas de las subunidades libres o unidas. En general, los microtúbulos son más inestables que los microfilamentos. En las células animales, la vida media de un microtúbulo individual es de unos 10 minutos. Por ello, se dice que los microtúbulos existen en un estado de *inestabilidad dinámica*.

A diferencia de los microtúbulos y los microfilamentos, los filamentos intermedios carecen de polaridad debido a la orientación antiparalela de los dímeros que forman los tetrámeros. Además, los filamentos intermedios parecen ser mucho más estables que los microtúbulos y los microfilamentos. Aunque se sabe muy poco de las estructuras similares a los filamentos intermedios en las células vegetales, en las células animales casi todas las proteínas de los filamentos intermedios se encuentran en estado polimerizado.

Función de los microtúbulos en la mitosis y la citocinesis

La **mitosis** es el proceso por el que los cromosomas previamente replicados se alinean, separan y distribuyen de forma ordenada entre las células hijas (Figura 1.23). Los microtúbulos son un componente fundamental de la mitosis. Antes del inicio de la mitosis, los microtúbulos de la parte externa del citoplasma se despolimerizan, separándose en sus subunidades constituyentes. Las subunidades se repolimerizan antes de iniciarse la profase para formar la **banda preprofásica (PPB)**, un anillo de microtúbulos que rodea al núcleo (véase la figura 1.23C-F). La PPB aparece en la región donde posteriormente se formará la pared celular tras completarse la mitosis y se cree que está implicada en la regulación del plano de división celular.

Durante la profase, los microtúbulos inician su ensamblaje en dos polos en lados opuestos del núcleo, formándose el **huso mitótico** (Figura 1.24). Aunque no están asociados con ninguna estructura específica, estos polos tienen la misma función que

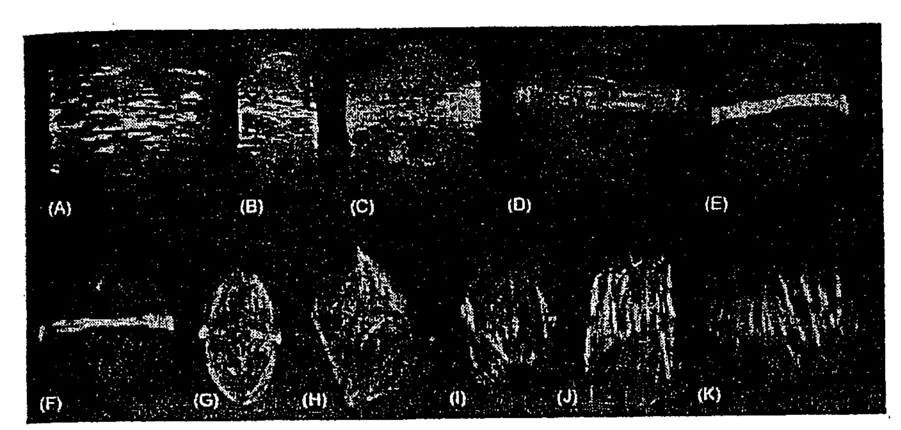


Figura 1.23 Micrografía de fluorescencia tomada con un microscopio confocal, donde se muestran los cambios en el reordenamiento de microtúbulos en diferentes estadios de desarrollo del ciclo celular de células meristemáticas de raíz de trigo. Los microtúbulos están teñidos de amarillo y verde; el DNA es azul. (A-D) Los microtúbulos corticales desaparecen y la banda preprofásica se forma alrededor del núcleo en el lugar de la futura placa celular. (E-H) El huso profásico se forma a partir de los microtúbulos en los polos. (G, H) La banda preprofásica desaparece en la profase tardía. (I-K) La membrana nuclear se rompe y los dos polos se hacen más difusos. El huso mitótico forma ordenamientos paralelos y los cinetócoros se unen a los microtúbulos del huso. (De Gunning y Steer 1996.) (Véase la fotografía en color en el CD.)

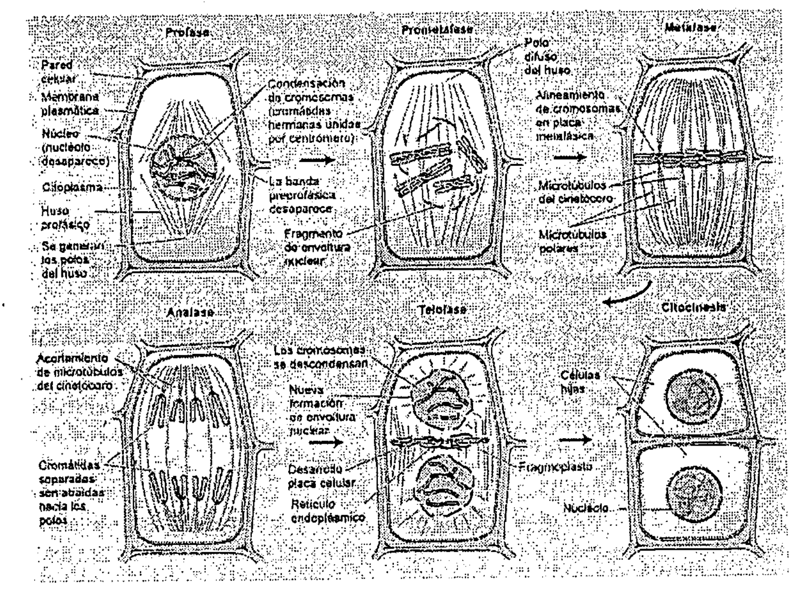


Figura 1.24 Esquema de la mitosis en plantas.

los centrosomas de las células animales en la organización y ensamblaje de los microtúbulos.

En la metafase temprana se rompe la envoltura nuclear, la PPB se deshace y los nuevos microtúbulos se polimerizan para formar el huso mitótico. En las células animales los microtúbulos del huso se dispersan radialmente desde los polos opuestos (centrómeros), dando un ordenamiento de los microtúbulos de tipo elipsoide, o de balón de rugbi. El huso mitótico de las células vegetales, que carece de centrosomas, es más parecido a una caja debido a que los microtúbulos del huso llegan desde una zona difusa que consiste en un centro múltiple en los extremos opuestos de la célula y se extienden hacia la zona media en una disposición casi paralela.

Algunos de los microtúbulos del aparato mitótico se unen a los cromosomas por sus **cinetócoros**, mientras que otros no lo hacen. Los cinetócoros están localizados en las regiones centroméricas de los cromosomas. Algunos de los microtúbulos no anclados se solapan con los microtúbulos de la región polar opuesta en la zona media del huso.

La **citocinesis** es el proceso por el cual una célula se divide en dos células hijas. La citocinesis suele iniciarse al final de la mitosis. La precursora de la nueva pared, la placa celular que se forma entre las dos células hijas, es rica en pectinas (Figura 1.25). La formación de la placa celular en plantas superiores es un proceso que tiene lugar en varias etapas (véase el **tema web 1.5**). El proceso de agregación de vesículas en la zona media del huso está organizado por el **fragmoplasto**, complejo de microtúbulos y RE que se forma durante la anafase tardía o en la telofase temprana a partir de las subunidades disociadas del huso.

Los microfilamentos están implicados en la corriente citoplásmatica y en el crecimiento del tubo polínico

La **corriente citoplasmática** es el movimiento coordinado de partículas y orgánulos a través del citosol en una ruta helicoidal hacia abajo por un lado de la célula y hacia arriba por el otro. La corriente citoplasmática se produce en la mayoría de las células vegetales y se ha estudiado en profundidad en las células gigantes de las algas verdes *Chara* y *Nitella*, donde la velocidad de esta corriente supera los 75 mm μs^{-1}.

El mecanismo de la corriente citoplasmática implica también a los haces de microfilamentos que están ordenados paralelamente a la dirección longitudinal del movimiento de las partículas. La generación de las fuerzas necesarias para dirigir este movimiento implica una interacción entre los microfilamentos de actina y la proteína miosina, de modo similar a la interacción entre proteínas que se produce en la contracción muscular en los animales.

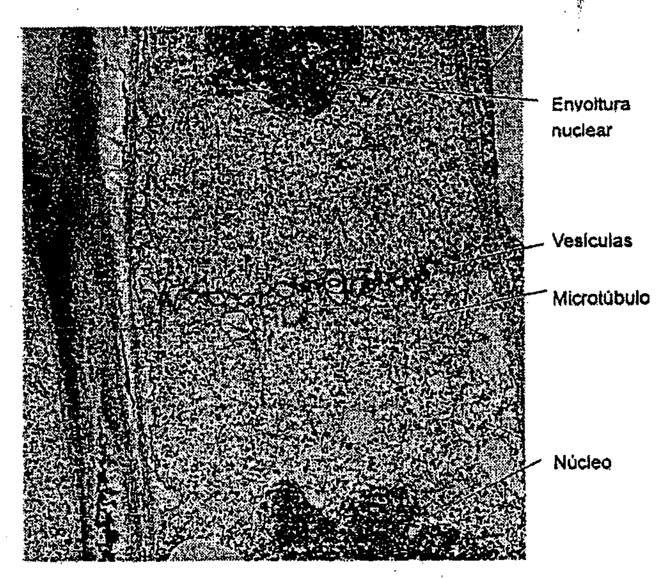


Figura 1.25 Micrografía electrónica de la formación de una placa celular en una plántula de arce (10.000×). (© E. H. Newcomb y B. A. Palevitz/Biological Photo Service.)

Las **miosinas** son proteínas que tienen la capacidad de hidrolizar ATP en ADP y P_i cuando se activan mediante su unión a un microfilamento de actina. La energía liberada por la hidrólisis del ATP impulsa a las moléculas de miosina a lo largo del microfilamento de actina desde el extremo negativo al extremo positivo. Así, las miosinas pertenecen a un grupo general de **proteínas motoras** que dirigen la corriente citoplasmática y los movimientos de orgánulos en la célula. Otros ejemplos de proteínas motoras son las **quinesinas** y las **dineínas**, que dirigen los movimientos de los orgánulos y otros componentes citoesqueléticos a lo largo de las superficies de los microtúbulos.

Los microfilamentos de actina también participan en el crecimiento del tubo polínico. Tras la germinación, un grano de polen forma una extensión en forma de tubo que se desarrolla a lo largo del estilo hacia el saco embrionario. A medida que el extremo del saco polínico se extiende, se deposita continuamente nuevo material de la pared celular para mantener la integridad de la pared.

Aparece una red de microfilamentos que guiará las vesículas que contienen los precursores de la pared desde el lugar de formación en el Golgi a través del citosol hasta el extremo del tubo donde se ha de formar la nueva pared. La fusión de estas vesículas con la membrana plasmática da lugar a depósitos de precursores de la pared en el exterior de la célula, donde son incorporados al material de la pared.

Los filamentos intermedios se encuentran en el citosol y en el núcleo de las células vegetales

Se sabe relativamente poco acerca de los filamentos intermedios vegetales. Se han identificado estructuras similares a los filamentos intermedios en el citoplasma de células vegetales (Yang y col. 1995), pero éstas parecen no estar formadas por queratina, como en las células animales, ya que todavía no se han identificado genes de la queratina en plantas. En las células vegetales también se han identificado láminas nucleares, otro tipo de filamentos intermedios que forman una densa red en la superficie interna de la membrana nuclear (Frederick y col. 1992), y se han identificado los genes que codifican proteínas similares a la lámina en el genoma de *Arabidopsis*. Presumiblemente, las láminas vegetales llevan a cabo funciones similares a las que desempeñan en las células animales como componentes estructurales de la envoltura nuclear.

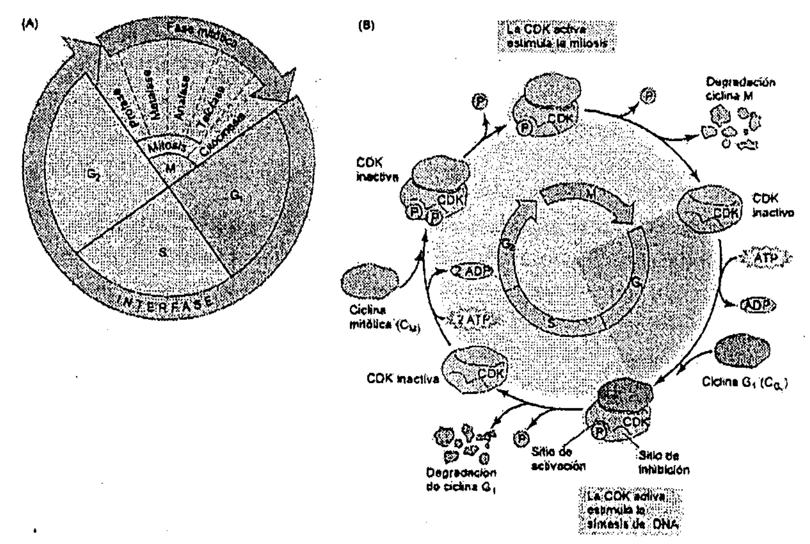


Figura 1.26 (A) Diagrama del ciclo celular. (B) Diagrama de la regulación del ciclo celular por una proteína quinasa dependiente de ciclina (CDK). Durante la fase G_1, la CDK está en la forma inactiva. La CDK se activa por unión de la ciclina G_1 (C_{G1}) y por fosforilación (P) en el sitio de activación. El complejo CDK-ciclina activado permite la transición a la fase S. Al final de la fase S, la ciclina G_1 es degradada y la CDK es desfosforilada, quedando una CDK inactiva. La célula entra en G_2. Durante la fase G_2, la CDK inactiva se une a la ciclina mitótica (C_M), o ciclina M. Al mismo tiempo, el complejo CDK-ciclina es fosforilado tanto en el sitio de activación como en el de inhibición. El complejo CDK-ciclina todavía es inactivo por estar fosforilado en el sitio de inhibición. El complejo inactivo se activa cuando una proteína fosfatasa elimina el fosfato del sitio de inhibición. La CDK activada estimula la transición desde G_2 a la mitosis. Al final de la mitosis, la ciclina mitótica es degradada, el fosfato que queda en el sitio de activación es eliminado por una fosfatasa y la célula entra de nuevo en la fase G_1.

REGULACIÓN DEL CICLO CELULAR

El ciclo de división celular, o ciclo celular, es el proceso por el que las células se reproducen a sí mismas y a su material genético, el DNA nuclear. Las cuatro fases del ciclo celular se designan como G_1, S, G_2 y M (Figura 1.26A).

Cada fase del ciclo celular comprende un conjunto de actividades bioquímicas y celulares específicas

En la fase G_1, el DNA nuclear se prepara para la replicación, mediante la formación de un complejo de prereplicación en cada origen de replicación que existe a lo largo de la cromatina. El DNA se replica durante la fase S y la fase G_2 prepara a las células para la mitosis.

Toda la arquitectura celular se altera cuando la célula entra en mitosis: la envoltura nuclear se rompe, la cromatina se condensa para formar los cromosomas, se forma el huso mitótico y los cromosomas replicados se unen a las fibras del huso. La transición desde la metafase a la anafase de la mitosis tiene un punto destacado cuando las dos cromátidas de cada cromosoma replicado, que estaban unidas a sus cinetócoros, se separan y los cromosomas hijos se reagrupan en los polos opuestos por las fibras del huso.

Un punto regulador clave se encuentra al principio de la fase G_1 del ciclo celular, cuando la célula se prepara para el inicio de la síntesis de DNA. En levaduras, este punto se llama INICIO. Una vez que la célula ha pasado el punto de INICIO se ve irreversiblemente determinada a iniciar la síntesis del DNA y a completar el ciclo celular a través de la mitosis y la citocinesis. Después de que la célula ha completado la mitosis, puede iniciar otro ciclo completo (desde la fase G_1 hasta la mitosis) o puede abandonar el ciclo celular y diferenciarse. Esta elección se realiza en el punto crítico de la fase G_1, antes de que la célula empiece a replicar su DNA.

La replicación del DNA y la mitosis están unidas en las células de mamíferos. Con frecuencia las células de mamíferos que han detenido su división pueden ser estimuladas con diversas hormonas y factores de crecimiento para volver a entrar en el ciclo celular. Cuando esto ocurre, entran en el ciclo celular por el punto crítico, al principio de la fase G_1. Por el contrario, las células vegetales pueden abandonar el ciclo de división celular antes o después de la replicación de su DNA (por ejemplo, durante las fases G_1 o G_2). En consecuencia, mientras la mayoría de las células animales son diploides (tienen dos copias de cada cromosoma), las células vegetales frecuentemente son tetraploides (tienen cuatro copias de cada cromosoma), o incluso poliploides (tienen muchas copias de cada cromosoma), después de realizar varios ciclos adicionales de replicación del DNA sin mitosis.

El ciclo celular está regulado por proteína quinasas

El mecanismo de regulación del progreso de las células a través de su ciclo celular está muy conservado en la evolución y las plantas han mantenido los componentes básicos de este mecanismo (Renaudin y col. 1996). Los enzimas clave que controlan la transición entre los diferentes estadios del ciclo celular y la entrada en el ciclo celular de células que no se están dividiendo, son las **proteína quinasas dependientes de ciclinas**, o **CDKs** (Figura 1.26B). Las proteína quinasas son enzimas que fosforilan proteínas utilizando ATP. La mayoría de los eucariotas multicelulares utilizan varias proteína quinasas que se activan en diferentes fases del ciclo celular. Para su activación, todas dependen de subunidades reguladoras llamadas ciclinas. La activación regulada de las CDK es esencial para las transiciones desde G_1 a S y desde G_2 a M y para la entrada en el ciclo celular de células que no se están dividiendo.

La actividad CDK puede estar regulada de distintas formas, pero los dos mecanismos más importantes son (1) la síntesis y destrucción de las ciclinas y (2) la fosforilación y desfosforilación de residuos de aminoácidos clave en la proteína CDK. Las CDK son inactivas a menos que se asocien con una ciclina. La mayoría de las ciclinas se renueva rápidamente; son sintetizadas y degradadas activamente (consumiendo ATP) en puntos específicos del ciclo celular. Las ciclinas son degradadas en el citosol por un gran complejo proteolítico llamado **proteasoma**. Antes de ser degradadas por el proteasoma, las ciclinas son marcadas para su destrucción mediante la unión de una pequeña proteína llamada *ubiquitina*, en un proceso que requiere ATP. La ubiquitinación es un mecanismo general para el marcaje de proteínas celulares destinadas a ser degradadas (véase el capítulo 14).

La transición desde la fase G_1 a la S necesita un conjunto de ciclinas (conocidas como **ciclinas G_1**) diferentes de las que se necesitan en la transición desde la fase G_2 a la mitosis, donde las **ciclinas mitóticas** activan las CDK (véase la figura 1.26B). Las CDK tienen dos tirosinas susceptibles de ser fosforiladas: una activa el enzima; la otra lo inactiva. Unas quinasas específicas llevan a cabo las fosforilaciones estimuladoras e inhibidoras.

Del mismo modo, unas proteína fosfatasas pueden eliminar el fosfato de las CDK, estimulando o inhibiendo su actividad, según la posición del fosfato. La adición o eliminación de grupos fosfato de las CDK está muy regulado y es un mecanismo importante para el control de la progresión del ciclo celular (véase la figura 1.26B). Los inhibidores de las ciclinas juegan un papel importante en la regulación del ciclo celular en los animales y probablemente también en las plantas, aunque se sabe poco acerca de los inhibidores de las ciclinas vegetales.

Por último, como veremos más adelante en este libro, ciertas hormonas vegetales son capaces de regular el ciclo celular mediante la regulación de la síntesis de enzimas claves de la ruta reguladora.

PLASMODESMOS

Los **plasmodesmos** son extensiones tubulares de la membrana plasmática, de 40 a 50 nm de diámetro, que atraviesan la pared celular y conectan el citoplasma de células adyacentes. Como la mayoría de las células vegetales están conectadas de esta forma, sus citoplasmas forman un sistema continuo conocido como **simplasto**. El transporte intercelular de solutos a través de los plasmodesmos se conoce como **transporte simplástico** (véanse los capítulos 4 y 6).

Hay dos tipos de plasmodesmos: primarios y secundarios

Los **plasmodesmos primarios** se forman durante la citocinesis, cuando las vesículas procedentes del Golgi que contienen los precursores de la pared celular se fusionan para formar la placa celular (la futura lámina media). Más que una lámina continua ininterrumpida, la placa celular recién depositada está atravesada por numerosos poros (Figura 1.27A), donde los restos del huso mitótico, formados por fragmentos del RE y microtúbulos, interrumpen la fusión de las vesículas. Las posteriores

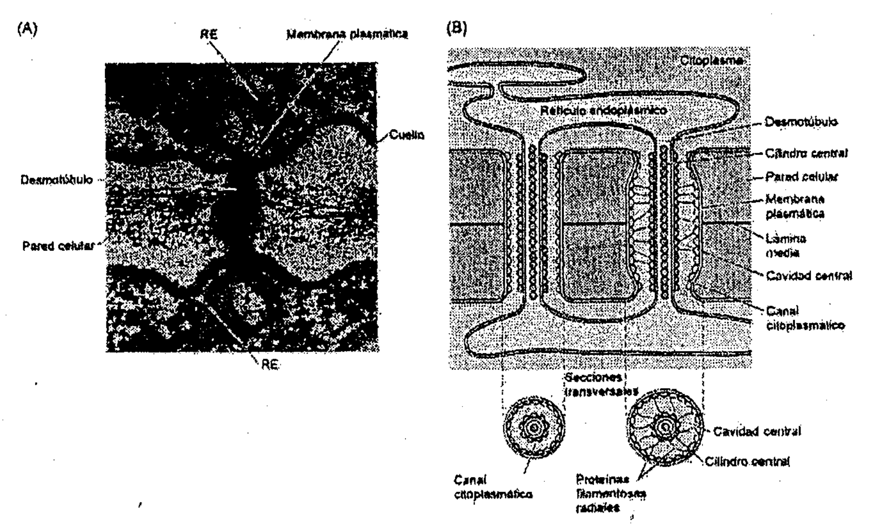


Figura 1.27 Plasmodesmos entre las células. (A) Micrografía electrónica de la pared que separa dos células adyacentes, donde se pueden ver los plasmodesmos. (B) Esquema de una pared celular con dos plasmodesmos con diferentes formas. El desmotúbulo es continuo con el RE de las células adyacentes. Las proteínas bordean la superficie externa del desmotúbulo y la superficie interna de la membrana plasmática; se cree que las dos superficies están conectadas por proteínas filamentosas. Los huecos entre las proteínas que bordean las dos membranas aparentemente controlan las propiedades moleculares de filtración de los plasmodesmos. (A de Tilney y col. 1991; B de Buchanan y col. 2000.)

deposiciones de polímeros de la pared aumentan el grosor de las dos paredes celulares primarias a ambos lados de la lámina media generando canales lineales recubiertos con la membrana (Figura 1.27B). El desarrollo de los plasmodesmos primarios proporciona una continuidad y comunicación directa entre las células que están relacionadas clonalmente (es decir, procedentes de una misma célula madre).

Los **plasmodesmos secundarios** se forman entre las células después de que sus paredes celulares se han formado. Se generan bien por evaginación de la membrana plasmática en la superficie celular o bien por ramificación de los plasmodesmos primarios (Lucas y Wolf 1993). Además de aumentar la comunicación entre las células relacionadas clonalmente, los plasmodesmos secundarios permiten la continuidad simplástica entre las células que no están relacionadas clonalmente.

Los plasmodesmos tienen una estructura interna compleja

Como los poros nucleares, los plasmodesmos tienen una estructura interna compleja que funciona regulando el tráfico macromolecular de célula a célula. Cada plasmodesmo contiene un estrecho túbulo de RE llamado **desmotúbulo** (véase la figura 12.7). El desmotúbulo se continúa con el RE de las células adyacentes. Así, el simplasto une no sólo el citoplasma de células vecinas, sino también el contenido del lumen del RE. Sin embargo, no está claro que el desmotúbulo represente realmente un pasaje, dado que no parece haber un espacio entre las membranas, que están fuertemente comprimidas.

Hay proteínas globulares asociadas a la membrana del desmotúbulo y a la membrana plasmástica del poro (véase figura 12.7B). Estas proteínas globulares parecen estar interconectadas por extensiones radiales, dividiendo al poro en 8 ó 10 microcanales (Ding y col. 1992). Algunas moléculas pueden pasar de célula a célula a través de los plasmodesmos, probablemente fluyendo a través de los microcanales, aunque aún no se ha establecido la ruta exacta de comunicación.

Siguiendo el movimiento de moléculas fluorescentes de diferentes tamaños a través de plasmodesmos que conectan las células epidérmicas de la hoja, Robards y Lucas (1990) determinaron que la masa molecular limitante para el transporte es de 700 a 1000 daltons, equivalente a un tamaño molecular de 1,5 a 2,0 nm. Este es el **tamaño límite de exclusión**, o **SEL**, de los plasmodesmos.

Si la anchura de las uniones citoplasmáticas es de 5 a 6 nm, ¿cómo es que se excluyen moléculas de tamaño superior a 2 nm? Las proteínas unidas a la membrana plasmática y al RE en los plasmodesmos parecen actuar restringiendo el tamaño de las moléculas que pueden pasar a través del poro. Como veremos en el capítulo 16, el SEL de los plasmodesmos se puede regular. Se sabe muy poco sobre el mecanismo de regulación del SEL, pero la localización de la actina y la miosina en los plasmodesmos, formando posiblemente las extensiones «radiales» (véase la figura 12.7B), sugiere que puedan participar en este proceso (White y col. 1994; Radford y White 1996). Estudios recientes también han implicado a proteína quinasas dependientes de calcio en la regulación del SEL del plasmodesmo.

RESUMEN

A pesar de su gran diversidad en forma y tamaño, todas las plantas llevan a cabo procesos fisiológicos similares. Como productores primarios, las plantas son capaces de convertir la energía solar en energía química. Al ser inmóviles, las plantas deben crecer hacia la luz y deben tener sistemas vasculares eficientes para el movimiento de agua, nutrientes minerales y productos fotosintéticos a través de toda la planta. Las plantas terrestres verdes también han de tener mecanismos para evitar la desecación.

La raíz y el vástago son los principales sistemas de órganos vegetativos de las plantas con semillas. El vástago está formado por dos tipos de órganos: tallos y hojas. A diferencia del desarrollo de los animales, el de las plantas es indeterminado debido a la presencia de tejidos meristemáticos permanentes en los ápices del vástago y de la raíz, que dan lugar a nuevos tejidos y órganos durante toda la fase vegetativa de su ciclo vital. Los meristemos laterales (*cambium* vascular y *cambium* suberógeno) dan lugar a un crecimiento en anillos o crecimiento secundario.

Se conocen tres sistemas tisulares principales: dérmico, fundamental y vascular. Cada uno de estos tejidos contiene diversos tipos de células especializadas para realizar diferentes funciones.

Las plantas son eucariotas y tienen la organización celular típica de estos organismos, formada por núcleo y citoplasma. El genoma vegetal dirige el crecimiento y desarrollo del organismo. El citoplasma se encuentra limitado por una membrana plasmática y contiene numerosos orgánulos delimitados por una membrana, como plastos, mitocondrias, microcuerpos, oleosomas y una gran vacuola central. Los cloroplastos y las mitocondrias son orgánulos semiautónomos que contienen su propio DNA. Sin embargo, la mayoría de sus proteínas son codificadas por el DNA nuclear y son importadas desde el citosol.

Los componentes del citoesqueleto (microtúbulos, microfibrillas y filamentos intermedios) participan en numerosos procesos que implican movimientos intracelulares como la mitosis, la corriente citoplasmática, el transporte de vesículas secretoras, la formación de la placa celular y el depósito de microfibrillas de celulosa. El proceso por el que las células se reproducen se denomina ciclo celular. El ciclo celular consta de las fases G_1, S, G_2 y M. la transición de una fase a otra está regulada por proteína quinasas dependientes de ciclina. La actividad de las CDK está regulada por ciclinas y por la fosforilación de proteínas.

Durante la citocinesis, el fragmoplasto da lugar a la placa celular en un proceso de muchas etapas que implica la fusión de vesículas. Después de la citocinesis se deposita la pared celular primaria. El citosol de las células adyacentes es continuo a través de las paredes celulares debido a la presencia de unos canales recubiertos de membrana llamados plasmodesmos, que juegan un papel importante en la comunicación célula a célula.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

1.1 El reino vegetal
Se estudian y describen los principales grupos del reino vegetal.

1.2 La estructura floral y el ciclo vital de las angiospermas
Se ilustran y describen las etapas reproductivas de las angiospermas.

1.3 Los sistemas tisulares de las plantas: dérmico, fundamental y vascular
Tratamiento detallado de la anatomía vegetal.

1.4 La estructura de los glicosilglicéridos de los cloroplastos
Se ilustran las estructuras químicas de los lípidos de los cloroplastos.

1.5 Las diversas etapas de la formación de la placa celular que ocurren tras la mitosis
Se describen los detalles de la producción de la placa celular durante la citocinesis.

REFERENCIAS

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. y Walter P. (2002) *Molecular Biology of the Cell*, 4ª ed. Garland, New York.
Buchanan B. B., Gruissem W. y Jones R. L. (eds.) (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* Amer. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD.
Ding B., Turgeon R. y Parthasarathy M. V. (1992) Substructure of freeze substituted plasmodesmata. *Protoplasma* 169: 28–41.
Driouich A., Levy S., Staehelin L. A. y Faye L. (1994) Structural and functional organization of the Golgi apparatus in plant cells. *Plant Physiol. Biochem.* 32: 731–749.

Esau K. (1960) *Anatomy of Seed Plants.* Wiley, New York.
Esau K. (1977) *Anatomy of Seed Plants*, 2ª ed. Wiley, New York.
Faye L., Fitchette-Lainé A. C., Gomord V., Chekkafi A., Delaunay A. M. y Driouich A. (1992) Detection, biosynthesis and some functions of glycans N-linked to plant secreted proteins. En *Post-translational Modifications in Plants* (SEB Seminar Series, nº 53), N. H. Battey, H. G. Dickinson y A. M. Heatherington, eds., Cambridge University Press, Cambridge, págs. 213–242.
Frederick S. E., Mangan M. E., Carey J. B. y Gruber P. J. (1992) Intermediate filament antigens of 60 and 65 kDa in the nuclear matrix of plants: Their detection and localization. *Exp. Cell Res.* 199: 213–222.
Gunning B. E. S. y Steer M. W. (1996) *Plant Cell Biology: Structure and Function of Plant Cells.* Jones and Bartlett, Boston.
Harwood J. L. (1997) Plant lipid metabolism. En *Plant Biochemistry*, P. M. Dey y J. B. Harborne, eds., Academic Press, San Diego, CA, págs. 237–272.
Huang A. H. C. (1987) Lipases en *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*. En Vol. 9, *Lipids: Structure and Function*, P. K. Stumpf, ed. Academic Press, New York, págs. 91–119.
Lucas W. J. y Wolf S. (1993) Plasmodesmata: The intercellular organelles of green plants. *Trends Cell Biol.* 3: 308–315.
O'Brien T. P. y McCully M. E. (1969) *Plant Structure and Development: A Pictorial and Physiological Approach.* Macmillan, New York.
Radford J. y White R. G. (1996) Preliminary localization of myosin to plasmodesmata. Third International Workshop on Basic and Applied Research in Plasmodesmal Biology, Zichron-Takov, Israel, March 10–16, 1996, págs. 37–38.
Renaudin J.-P., Doonan J. H., Freeman D., Hashimoto J., Hirt H., Inze D., Jacobs T., Kouchi H., Rouze P., Sauter M., y col. (1996) Plant cyclins: A unified nomenclature for plant A-, B- and D-type cyclins based on sequence organization. *Plant Mol. Biol.* 32: 1003–1018.
Robards A. W. y Lucas W. J. (1990) Plasmodesmata. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 369–420.
Tilney L. G., Cooke T. J., Connelly P. S. y Tilney M. S. (1991) The structure of plasmodesmata as revealed by plasmolysis, detergent extraction, and protease digestion. *J. Cell Biol.* 112: 739–748.
White R. G., Badelt K., Overall R. L. y Vesk M. (1994) Actin associated with plasmodesmata. *Protoplasma* 180: 169–184.
Yang C., Min G. W., Tong X. J., Luo Z., Liu Z. F. y Zhai Z. H. (1995) The assembly of keratins from higher plant cells. *Protoplasma* 188: 128–132.

Capítulo 2

Capítulo web

Contenido disponible en www.plantphys.net

ENERGÍA Y ENZIMAS

El flujo de energía es una característica universal de los sistemas vivos. También está presente en la base de los movimientos de átomos y moléculas, y en las reacciones que caracterizan los sistemas no vivos. Las moléculas de agua no se moverían a través del suelo, al interior de la planta, ascendiendo por el xilema, a la hoja y desde ahí hacia la atmósfera, si no existieran gradientes apropiados de energía. La luz del sol, la región visible del espectro electromagnético, debe ser capturada y convertida en energía química para permitir la síntesis de las complejas moléculas orgánicas necesarias para la vida. De hecho, no existe ningún proceso físico o químico en la planta que no implique transformaciones energéticas de algún tipo. Así, el estudio de la energía en los sistemas vivos, o bioenergética, es fundamental para comprender la fisiología vegetal.

En este capítulo revisaremos los conceptos y principios básicos sobre las transformaciones energéticas, englobados en la *termodinámica*, así como sus aplicaciones a plantas y otros organismos. El concepto de energía libre proporciona la base para la comprensión de la dirección de los procesos espontáneos. La presencia de membranas semipermeables en las células vivas permite la formación de gradientes de energía que impulsan las reacciones necesarias para la vida. Este capítulo incluye una introducción de los conceptos básicos del transporte a través de membrana, que será tratado más extensamente en capítulos posteriores sobre las relaciones hídricas de la planta (véanse los capítulos 3 y 4) y el transporte de solutos.

Finalmente, la vida sería imposible sin la presencia de catalizadores proteicos, llamados *enzimas*, que aceleran las reacciones que normalmente serían demasiado lentas para ser compatibles con los procesos de la vida. Este capítulo termina con un breve repaso a la estructura de proteínas, los mecanismos de las reacciones catalizadas por enzimas y los mecanismos fundamentales de regulación de los enzimas en las células vivas.

EL FLUJO DE ENERGIA A TRAVÉS DE LOS SISTEMAS VIVOS

ENERGÍA Y TRABAJO
La primera ley: la energía total siempre se conserva
La variación de la energía interna de un sistema representa el máximo trabajo que puede realizar
Cada tipo de energía está caracterizada por un factor de capacidad y un factor de potencial

DIRECCIÓN DE LOS PROCESOS ESPONTÁNEOS
La segunda ley: la entropía total siempre aumenta
Un proceso es espontáneo si ΔS para el sistema y sus alrededores es positiva

ENERGÍA LIBRE Y POTENCIAL QUÍMICO
ΔG es negativa para los procesos espontáneos a temperatura y presión constantes
La variación de energía libre estándar, ΔG^{o}, es la variación de la energía libre cuando la concentración de reactivos y productos es de 1 M
El valor de ΔG es función del desplazamiento de la reacción del equilibrio
La variación de entalpía mide la energía transferida como calor

REACCIONES REDOX
La variación de energía libre en una reacción de oxidación-reducción se expresa como el potencial redox estándar en unidades electroquímicas

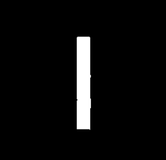
POTENCIAL ELECTROQUÍMICO
El transporte de un soluto no cargado en contra de su gradiente de concentración reduce la entropía del sistema
El potencial de membrana es el trabajo que debe realizarse para trasladar un ión desde un lado de la membrana al otro
La diferencia de potencial electroquímico, $\Delta\mu$, incluye los componentes tanto de concentración como eléctricos

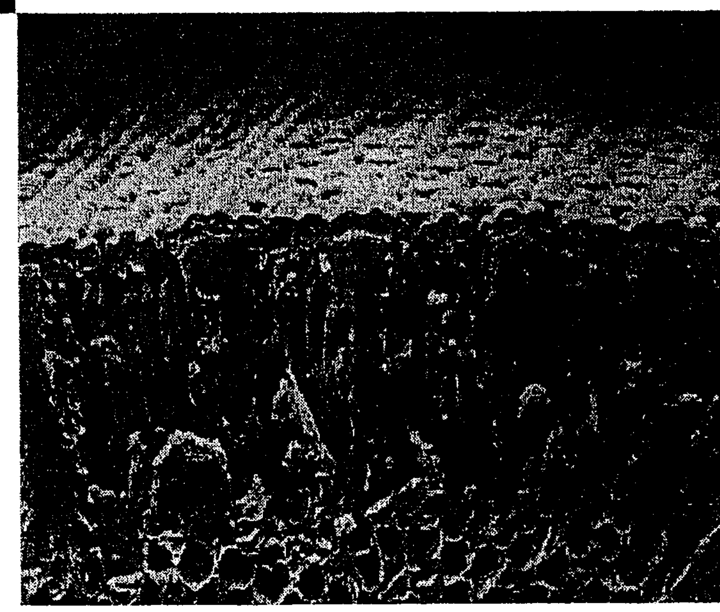
ENZIMAS: LOS CATALIZADORES DE LA VIDA
Las proteínas son cadenas de aminoácidos unidos por puentes peptídicos
La estructura proteica es jerárquica
Los enzimas son proteínas catalizadoras altamente específicas
Los enzimas reducen la barrera de energía libre entre sustratos y productos
Una ecuación cinética sencilla describe la reacción catalizada por enzima
Los enzimas están sujetas a varias clases de inhibición
El pH y la temperatura afectan a la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas
Los sistemas cooperativos aumentan la sensibilidad a los sustratos y, normalmente, son alostéricos

Las cinéticas de algunos de los procesos de transporte a través de membrana pueden describirse mediante la ecuación de Michaelis-Menten
La actividad enzimática suele estar regulada

RESUMEN

UNIDAD





TRANSPORTE DE AGUA Y SOLUTOS

Capítulo 3

EL AGUA Y LAS CÉLULAS VEGETALES

EL AGUA JUEGA UN PAPEL CRUCIAL en la vida de la planta. Por cada gramo de materia orgánica producida por la planta, las raíces absorben aproximadamente 500 g de agua que son transportados a través del cuerpo de la planta y liberados en la atmósfera. Cualquier pequeño desequilibrio en este flujo de agua puede causar un déficit hídrico y una grave disfunción de muchos procesos celulares. Así, para cada planta existe un delicado equilibrio entre el agua incorporada y el agua liberada. Mantener este equilibrio es un serio desafío para las plantas terrestres. Para llevar a cabo la fotosíntesis, la planta necesita incorporar dióxido de carbono de la atmósfera exponiéndose a perder agua y a sufrir deshidratación.

Una diferencia importante entre las células animales y las vegetales, y que afecta a todos los aspectos relacionados con el agua, es la existencia de la pared celular en las plantas. Las paredes celulares permiten a las células vegetales crear una gran presión hidrostática interna, o **presión de turgencia**, que es el resultado del equilibrio hídrico. La presión de turgencia es esencial para muchos procesos fisiológicos como son el crecimiento celular, el intercambio gaseoso en las hojas, el transporte en el floema y diversos procesos de transporte a través de membrana. La presión de turgencia también contribuye a la rigidez y a la estabilidad mecánica de los tejidos vegetales no lignificados. En este capítulo consideraremos el movimiento de entrada y salida del agua en las células vegetales, destacando las propiedades moleculares del agua y las fuerzas físicas que influyen en su movimiento a nivel celular. Pero primero describiremos las principales funciones del agua en la vida vegetal.

EL AGUA EN LA VIDA DE LA PLANTA

El agua constituye la mayor parte de la masa de las células vegetales, tal como se aprecia fácilmente cuando se observan secciones de células vegetales maduras al microscopio: cada célula contiene una gran vacuola llena de agua. En dichas células,

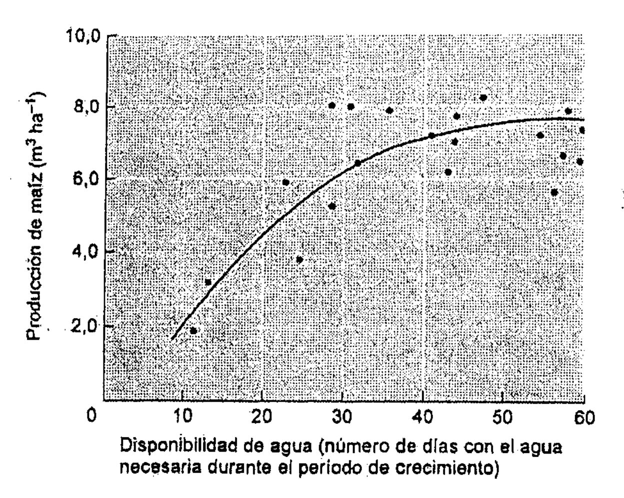


Figura 3.1 Producción de maíz en función del agua disponible. Los datos representados aquí se recogieron en una granja de Iowa durante un período de 4 años. La disponibilidad de agua se valoró como el número de días sin estrés hídrico durante un período de crecimiento de 9 semanas. (Datos de *Weather and Our Food Suply* 1964).

el citoplasma representa sólo un 5-10 % del volumen celular, el resto lo ocupa la vacuola. El agua constituye entre el 80 y el 95 % de la masa de los tejidos de las plantas en crecimiento. Hortalizas tan comunes como las zanahorias y la lechuga contienen entre un 85 y un 95 % de agua. La madera, que está formada principalmente por células muertas, tiene un contenido en agua menor: la albura, que es la parte del xilema activa para el transporte, contiene entre un 35 y un 75 % de agua; mientras que el duramen, o parte más interna de la madera, tiene una cantidad de agua ligeramente menor. Las semillas, con un contenido hídrico del 5 al 15 %, están entre los tejidos vegetales más secos, por lo que antes de la germinación han de absorber una gran cantidad de agua.

El agua es el mejor y más abundante disolvente conocido. Como tal, proporciona el medio para el movimiento de las moléculas tanto en el interior celular como entre células, e influye notablemente en la estructura de las proteínas, los ácidos nucleicos, los polisacáridos y otros componentes celulares. El agua es el medio en el que se producen la mayoría de las reacciones bioquímicas de la célula, y participa directamente en numerosas reacciones químicas esenciales.

Las plantas están absorbiendo y perdiendo agua continuamente. La mayoría del agua que pierde la planta se evapora desde las hojas al mismo tiempo que el CO_2, necesario para la fotosíntesis, es absorbido de la atmósfera. En un día caluroso, soleado y seco, una hoja puede intercambiar el 100 % de su agua en una sola hora. Durante su vida, una planta puede perder el equivalente a 100 veces su peso fresco en agua a través de la superficie de sus hojas. Este proceso de pérdida de agua desde la superficie de la hoja se denomina **transpiración**.

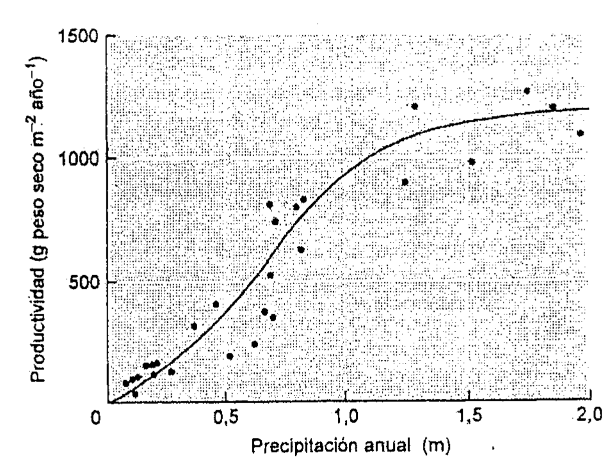


Figura 3.2 Productividad de varios ecosistemas en función de las precipitaciones anuales. La productividad se estimó como la acumulación neta de materia orgánica en la parte aérea de la planta durante el crecimiento y la reproducción. (Según Whittaker 1970).

La transpiración es una forma importante de disipar el calor que la planta absorbe del sol. El calor se disipa porque las moléculas de agua que escapan a la atmósfera tienen una energía mayor que la media, por lo que se rompen los enlaces que las mantienen en la fase líquida. Cuando estas moléculas se liberan, dejan detrás una masa de moléculas de agua con una energía más baja que la media y, por tanto, una masa de agua más fría. Para una hoja típica, cerca de la mitad del calor absorbido del sol es disipado por transpiración. Además, la corriente de agua captada por las raíces es una forma importante de aportar a la superficie radical minerales disueltos del suelo para su absorción.

De todos los recursos que la planta necesita para crecer y funcionar, el agua es el más abundante y, al mismo tiempo, el más limitante de la productividad agrícola (Figura 3.1) El hecho de que el agua sea un factor limitante es la razón por la cual se riegan los cultivos. Del mismo modo, la disponibilidad de agua limita la productividad de los ecosistemas naturales (véase la figura 3.2). Por todo ello, la comprensión de los procesos de absorción y pérdida de agua por las plantas es de gran importancia.

Iniciaremos nuestro estudio del agua considerando cómo su estructura da lugar a algunas de sus propiedades físicas únicas. Analizaremos las bases físicas del movimiento del agua, el concepto de potencial hídrico y la aplicación de este concepto a las relaciones célula-agua.

LA ESTRUCTURA Y LAS PROPIEDADES DEL AGUA

El agua tiene propiedades únicas que le permiten actuar como disolvente y ser transportada por toda la planta. Estas propiedades derivan de la estructura polar de la molécula de agua. En esta sección examinaremos cómo los enlaces de hidrógeno contribuyen a las propiedades del agua que son necesarias para la vida.

La polaridad de las moléculas de agua permite formar puentes de hidrógeno

Las moléculas de agua están formadas por un átomo de oxígeno unido covalentemente a dos átomos de hidrógeno. Los enlaces O–H forman un ángulo de 105° (Figura 3.3). Como el átomo de oxígeno es más **electronegativo** que el de hidrógeno, el oxígeno tiende a atraer a los electrones del enlace covalente. Por ello, el oxígeno posee una carga parcial negativa en el extremo de la molécula y en cada átomo de hidrógeno hay una carga parcial positiva. Estas cargas parciales son iguales, de manera que la molécula de agua no tiene carga *neta*.

Esta separación de cargas, junto con la geometría de la molécula, hace de la molécula de agua una *molécula polar* y permite que las cargas parciales opuestas de las moléculas vecinas puedan atraerse entre sí. La atracción electrostática débil entre las moléculas de agua, conocida como **puentes de hidrógeno**, es la responsable de muchas de las propiedades físicas anómalas del agua.

Los puentes de hidrógeno también se pueden formar entre el agua y otras moléculas que contengan átomos electronegativos (O ó N). En soluciones acuosas, los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua dan lugar a agregaciones locales

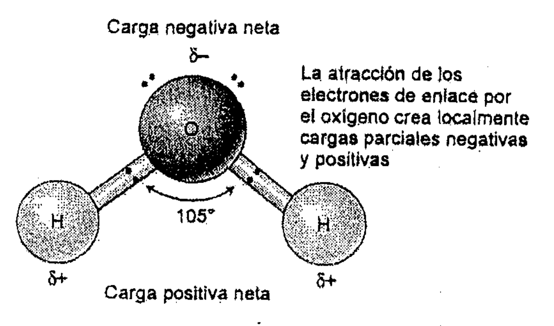


Figura 3.3 Diagrama de la molécula de agua. Los dos enlaces intramoleculares hidrógeno-oxígeno forman un ángulo de 105°. Las cargas parciales opuestas (δ_- y δ_+) en la molécula de agua dan lugar a la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares con otras moléculas de agua. El oxígeno tiene 6 electrones en su orbital más externo; cada hidrógeno tiene uno.

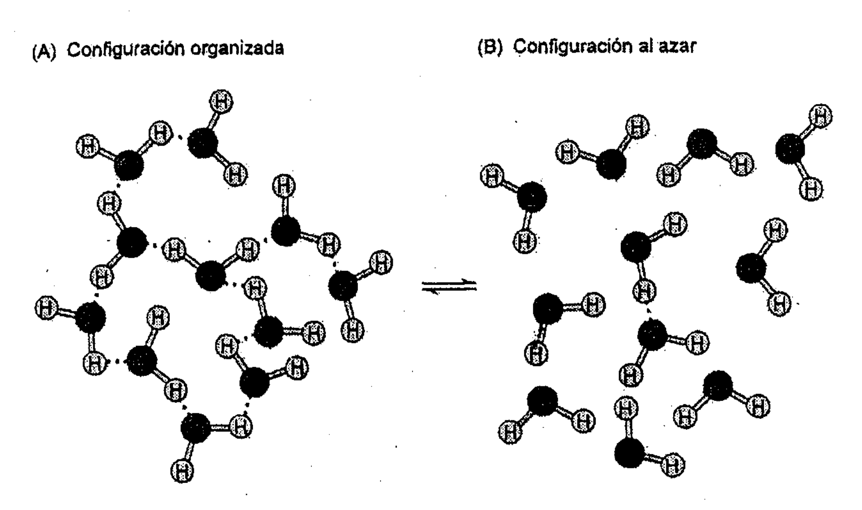


Figura 3.4 (A) Los puentes de hidrógeno entre moléculas de agua dan lugar a agregaciones locales de moléculas de agua. (B) La continua agitación térmica de las moléculas de agua, hace que estas agregaciones tengan una vida muy corta y se rompan rápidamente para formar configuraciones mucho más aleatorias.

y ordenadas del agua que, debido a la continua agitación térmica de sus moléculas, se forman, se rompen y reconstruyen continuamente (Figura 3.4).

La polaridad del agua la convierte en un disolvente excelente

El agua es un excelente disolvente: disuelve cantidades mayores y de una mayor variedad de sustancias que cualquier otro disolvente. Esta versatilidad como disolvente es debida, en parte, al pequeño tamaño de la molécula de agua y, en parte, a su naturaleza polar. Esto último hace que el agua sea un disolvente particularmente bueno para sustancias iónicas y para moléculas tales como azúcares y proteínas que contienen grupos polares –OH o $-NH_2$.

Los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua y los iones, y entre el agua y los solutos polares, reducen de manera efectiva las interacciones electrostáticas entre las sustancias cargadas en solución y, por tanto, aumentan su solubilidad. Además, los extremos polares de las moléculas de agua pueden orientarse hacia grupos cargados o parcialmente cargados en las macromoléculas, formando **capas de hidratación**. Los puentes de hidrógeno entre las macromoléculas y el agua reducen las interacciones entre las macromoléculas y les ayudan a disolverse.

Las propiedades térmicas del agua son el resultado de la formación de puentes de hidrógeno

La gran cantidad de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua da lugar a unas propiedades térmicas anormales, como son un calor específico y un calor latente de vaporización altos. El **calor específico** es la cantidad de energía calorífica que se necesita para aumentar la temperatura de una sustancia en una cantidad determinada.

Cuando aumenta la temperatura del agua, las moléculas vibran más rápidamente y con una mayor amplitud. Para permitir este movimiento debe suministrarse energía al sistema para romper los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua. Así, comparada con otros líquidos, el agua necesita un aporte de energía relativamente grande para aumentar su temperatura. Para las plantas este hecho es importante porque ayuda a amortiguar las fluctuaciones de temperatura.

El **calor latente de vaporización** es la energía necesaria para separar las moléculas de la fase líquida y trasladarlas a la fase gaseosa a temperatura constante, un proceso que se produce durante la transpiración. Para el agua a 25 °C, el calor de vaporización es de 44 kJ mol^{-1}, que es el valor más alto conocido para cualquier líquido. La mayor parte de esta energía se emplea en romper los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua.

Las plantas tienden a calentarse debido al aporte de energía radiante del sol. El elevado calor de vaporización del agua permite a las plantas enfriarse al evaporar el agua de la superficie de sus hojas. La transpiración es un componente importante de la regulación de la temperatura de las plantas.

Las propiedades cohesivas y adhesivas del agua son debidas a los puentes de hidrógeno

Las moléculas de agua en una interfase aire-agua se atraen entre sí con más fuerza de lo que son atraídas por las de la fase gaseosa en contacto con la superficie acuosa. Como consecuencia de esta atracción desigual, la interfase aire-agua tiende a minimizar su superficie. Para aumentar el área de la interfase aire-agua se deben romper los puentes de hidrógeno, lo que requiere un aporte de energía. La energía necesaria para aumentar el área superficial se conoce como **tensión superficial**. La tensión superficial no sólo influye en la forma de la superficie, sino que también crea una presión en el resto del líquido. Como veremos más adelante, la tensión superficial en las superficies de evaporación de las hojas genera las fuerzas físicas necesarias para impulsar el agua a través del sistema vascular de la planta.

El gran número de puentes de hidrógeno en el agua da lugar a la propiedad conocida como **cohesión**, que es la atracción mutua entre moléculas. Una propiedad relacionada, la **adhesión**, es la atracción del agua por una fase sólida como es la pared celular o una superficie de vidrio. La cohesión, la adhesión y la tensión superficial dan lugar a un fenómeno conocido como **capilaridad**, que es el movimiento del agua a lo largo de un tubo capilar.

En un tubo capilar de vidrio orientado verticalmente, el movimiento hacia arriba del agua es debido a (1) la atracción del agua por la superficie polar del tubo de vidrio (adhesión) y (2) a la tensión superficial del agua, que tiende a minimizar el área de la interfase aire-agua. Juntas, la adhesión y la tensión superficial tiran de las moléculas de agua, obligándolas a subir por el tubo hasta que se equilibra dicha fuerza de empuje con el peso de la columna de agua. Cuanto más estrecho es el tubo mayor es el ascenso del agua por capilaridad. Para cálculos relacionados con la ascensión por capilaridad, véase el **tema web 3.1**.

El agua tiene una alta fuerza tensional

La cohesión confiere al agua una elevada **fuerza tensional**, que se define como la fuerza máxima por unidad de área que puede resistir una columna continua de agua sin llegar a romperse. Normalmente no pensamos que los líquidos tienen fuerza tensional; sin embargo, esta propiedad es necesaria para que una columna de agua pueda ser impulsada hacia arriba por un tubo capilar.

La fuerza tensional del agua puede demostrarse colocándola en una jeringuilla con tapa (Figura 3.5). Si *empujamos* el émbolo de la jeringuilla, el agua se comprime y se genera una **presión hidrostática**. La presión se mide en unas unidades llamadas *pascales* (Pa), o más adecuadamente, *megapascales* (MPa). Un MPa equivale aproximadamente a 9,9 atmósferas. La presión es equivalente a fuerza por unidad de superficie (1 Pa = 1 N m^{-2}) y a energía por unidad de volumen (1 Pa = 1 J m^{-3}). Un newton (N) = 1 kg m s^{-1}. La tabla 3.1 compara varias unidades de presión.

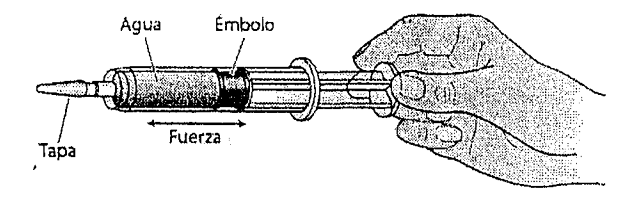


Figura 3.5 Se puede utilizar una jeringuilla sellada para crear presiones positivas y negativas en un fluido como el agua. Si se presiona el émbolo, comprimimos el fluido y se genera una presión positiva. Si en la jeringuilla queda atrapada una pequeña burbuja, se puede observar cómo se contrae a medida que aumenta la presión. Estirando del émbolo el fluido desarrolla una tensión, o presión negativa. Si la jeringuilla contiene cualquier burbuja de aire, comenzará a expandirse a medida que la presión se vaya reduciendo.

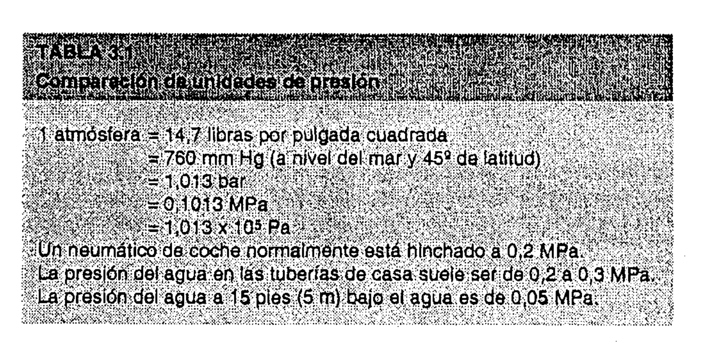
Si en lugar de empujar el émbolo, lo estiramos, se genera en el agua una tensión o *presión hidrostática negativa* para resistir el estiramiento. ¿Cuánto hemos de estirar el émbolo antes que las moléculas de agua se separen unas de otras y se rompa la columna de agua? Para romper la columna de agua se necesita suficiente energía para romper los puentes de hidrógeno que atraen unas moléculas de agua a otras.

Estudios detallados han demostrado que el agua en pequeños capilares puede resistir tensiones más negativas de –30 MPa (el signo negativo indica una tensión, en oposición a una compresión). Este valor es tan sólo una fracción de la fuerza tensional teórica del agua, calculada a partir de la fuerza de los puentes de hidrógeno. Sin embargó, es bastante importante.

La presencia de burbujas de gas reduce la fuerza tensional en la columna de agua. Por ejemplo, en la jeringuilla de la figura 3.5, la expansión de burbujas microscópicas interfiere con frecuencia en la capacidad del agua para resistir la succión ejercida por el émbolo. Si se forma una pequeña burbuja en una columna de agua sometida a tensión, la burbuja de gas se expandirá indefinidamente, provocando que la tensión en la fase líquida se colapse, un fenómeno conocido como **cavitación**. Como veremos en el capítulo 4, la cavitación tiene un efecto devastador en el transporte de agua a través del xilema.

LOS PROCESOS DE TRANSPORTE DEL AGUA

Cuando el agua se mueve desde el suelo a través de la planta hasta la atmósfera, viaja a través de diferentes medios (pared celular, citoplasma, membranas, espacios aéreos), y el mecanismo de transporte varía con el tipo de medio. Durante mucho tiempo hubo muchas incertidumbres sobre cómo se movía el agua a través de las membranas vegetales. En concreto, no estaba claro si el movimiento en las células vegetales estaba limitado a la difusión de moléculas de agua a través de la bicapa lipídica de la membrana plasmática o si también implicaba la difusión a través de poros delimitados por proteínas (Figura 3.6).


TABLA 3.1
Comparación de unidades de presión

1 atmósfera	= 14,7 libras por pulgada cuadrada
	= 760 mm Hg (a nivel del mar y 45º de latitud)
	= 1,013 bar
	= 0,1013 MPa
	= $1,013 \times 10^5$ Pa

Un neumático de coche normalmente está hinchado a 0,2 MPa.
La presión del agua en las tuberías de casa suele ser de 0,2 a 0,3 MPa.
La presión del agua a 15 pies (5 m) bajo el agua es de 0,05 MPa.

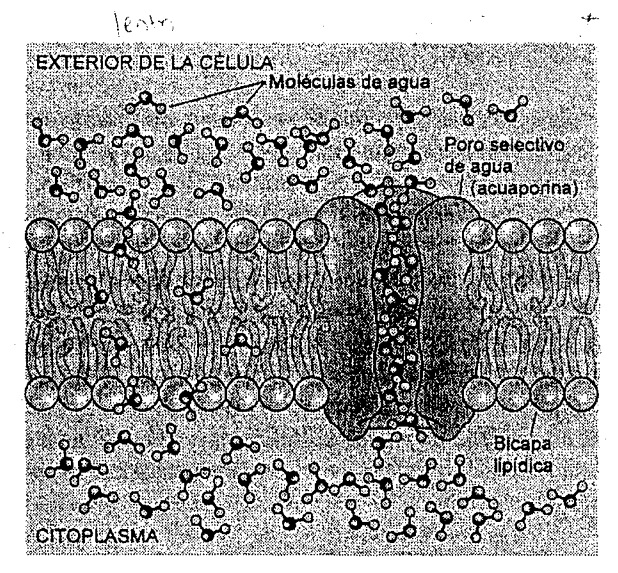


Figura 3.6 El agua puede atravesar las membranas vegetales por difusión de las moléculas a través de la bicapa de la membrana, como se muestra a la izquierda del esquema, y por flujo másico de moléculas de agua a través de poros selectivos de agua formados por proteínas de membrana como las acuaporinas.

Algunos estudios indicaban que la difusión directa a través de la bicapa lipídica no era suficiente para explicar las enormes velocidades de movimiento de agua observadas en las membranas, aunque no existían evidencias claras de poros microscópicos que apoyaran otra idea. Esta incertidumbre fue desvelada recientemente con el descubrimiento de las **acuaporinas** (véase la figura 3.6). Las acuaporinas son unas proteínas integrales de membrana que forman canales selectivos para el paso del agua a través de la membrana. Como el agua difunde más rápidamente a través de estos canales que a través de la bicapa lipídica, las acuaporinas facilitan el movimiento del agua en las células vegetales (Weig y col. 1997; Schäffner 1998; Tyreman y col. 1999). Nótese que, aunque la presencia de acuaporinas puede alterar la *velocidad* de movimiento del agua a través de la membrana, no cambia la dirección del transporte o la fuerza que impulsa el movimiento del agua. Actualmente se están dedicando muchos esfuerzos a la investigación del mecanismo de acción de las acuaporinas (Tajkhorshid y col. 2002).

Consideraremos ahora los dos principales procesos en el transporte del agua: la difusión molecular y el flujo másico.

La difusión es el movimiento de las moléculas debido a un proceso de agitación térmica al azar

Las moléculas de agua en una solución no están quietas, están en continuo movimiento, chocando unas con otras e intercambiando energía cinética. Las moléculas se entremezclan como resultado de la agitación térmica al azar. Este movimiento al azar es la **difusión.** Considerando que no haya otras fuerzas actuando sobre las moléculas, la difusión es la causa del movimiento de las sustancias desde las zonas más concentradas a las menos concentradas, es decir, a favor de gradiente de concentración (Figura 3.7).

Hacia el año 1880, el científico alemán Adolf Fick descubrió que la tasa de difusión es directamente proporcional al gradiente de concentración ($\Delta C_s/\Delta x$), xes decir, a la diferencia de concentración de la sustancia *s* (ΔC_s) entre dos puntos separados por una distancia Δx. Mediante símbolos, la expresión de la primera ley de Fick es:



$$J_s = -D_s \frac{\Delta c_s}{\Delta x} \quad (3.1)$$

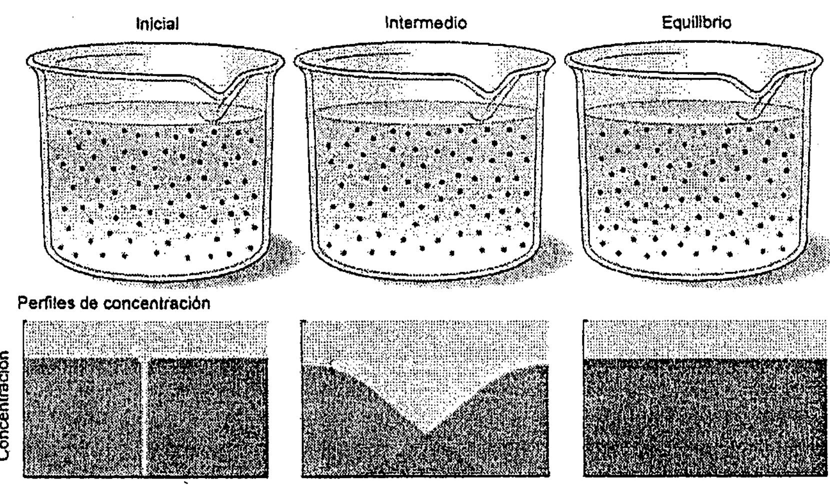


Figura 3.7 El movimiento térmico de las moléculas da lugar a la *difusión*, la mezcla gradual de las moléculas y la desaparición final de las diferencias de concentración. Inicialmente, los dos materiales que contienen moléculas diferentes se ponen en contacto. Los materiales pueden ser gases, líquidos o sólidos. La difusión es más rápida en gases, más lenta en líquidos y aún más lenta en sólidos. La separación inicial de las moléculas se señala gráficamente en los paneles superiores y los perfiles correspondientes de concentración se muestran en los paneles de la parte inferior en función de la posición. Con el tiempo, la mezcla aleatoria de las moléculas da lugar a un movimiento neto pequeño. En equilibrio, los dos tipos de moléculas están distribuidas al azar.

La velocidad de transporte de soluto o **densidad de flujo** (J_s), es la cantidad de sustancia *s* que atraviesa una unidad de superficie por unidad de tiempo (por ejemplo, J_s puede tener unidades de moles por metro cuadrado por segundo [mol m^{-2} s^{-1}]). El **coeficiente de difusión** (D_s) es la constante de proporcionalidad que mide la facilidad con la que la sustancia *s* atraviesa un medio. El coeficiente de difusión es característico de cada sustancia (las moléculas más grandes tienen coeficientes de difusión menores) y depende del medio (la difusión en el aire es mucho más rápida que en un líquido, por ejemplo). El signo negativo de la ecuación indica que el flujo se produce a favor de un gradiente de concentración.

La primera ley de Fick dice que una sustancia difundirá tanto más rápidamente cuanto mayor sea su gradiente de concentraciones (ΔC_s) o cuanto mayor sea el coeficiente de difusión. Esta ecuación es aplicable únicamente al movimiento en respuesta a un gradiente de concentraciones, y no al movimiento debido a otras fuerzas (por ejemplo, presión, campos eléctricos, etc.).

La difusión es rápida en distancias cortas, pero extremadamente lenta en distancias largas

De la primera ley de Fick, se puede deducir una expresión para el tiempo que tarda una sustancia en recorrer una determinada distancia. Si las condiciones iniciales son tales que todas las moléculas de soluto están concentradas en una posición ini-

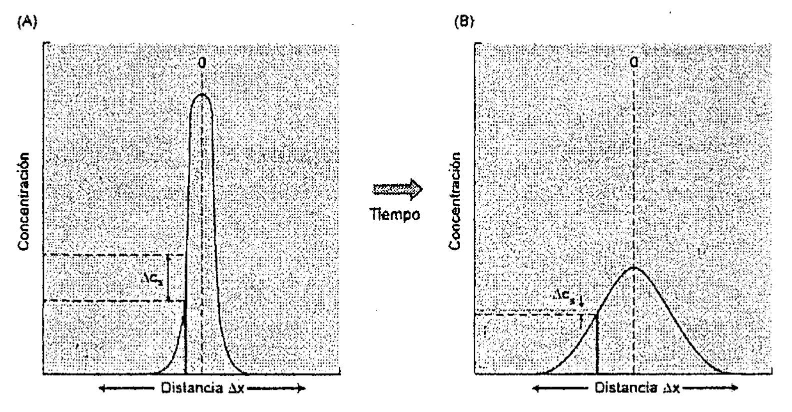


Figura 3.8 Representación gráfica del gradiente de concentración de un soluto difundiendo según la ley de Fick. Las moléculas de soluto se colocaron inicialmente en el plano indicado por el eje x. (A) Distribución de las moléculas de soluto justo después de su colocación en el plano del origen. Obsérvese como la concentración cae bruscamente a medida que aumenta la distancia (*x*) desde el origen. (B) Distribución del soluto en un momento posterior. La distancia media de las moléculas en difusión desde el origen ha aumentado y la pendiente del gradiente se ha reducido. (Según Nobel 1983).

cial (Figura 3.8A), para cualquier tiempo posterior el frente de concentración se alejará de esta posición inicial, tal como se muestra en la figura 3.8B. A medida que la sustancia difunde desde la posición inicial, el gradiente de concentración se hace cada vez más pequeño (ΔC_s disminuye), de forma que el movimiento neto se ralentiza.

El tiempo medio que tarda una partícula en recorrer una distancia L es igual a L^2/D_s, donde D_s es el coeficiente de difusión, que depende tanto del tipo de partícula como del medio en el que difunde. Así, el tiempo medio necesario para que una sustancia difunda a través de una distancia determinada aumenta proporcionalmente con el cuadrado de la distancia. El coeficiente de difusión para la glucosa en agua es del orden de 10^{-9} m^2 s^{-1}. Así, el tiempo medio necesario para que una molécula de glucosa difunda a través de una célula con un diámetro de 50 µm es de 2,5 s. Sin embargo, el tiempo necesario para que la misma molécula de glucosa recorra una distancia de 1 m en agua es aproximadamente de 32 años. Estos valores muestran que la difusión en soluciones puede ser efectiva para las dimensiones celulares, pero es demasiado lenta para el transporte másico a largas distancias. Para cálculos adicionales sobre tiempos de difusión, véase el **tema web 3.2**.

El transporte de agua a larga distancia se produce por un flujo másico impulsado por presión

Un segundo proceso que dirige el movimiento de agua es el **flujo másico**. El flujo másico es el movimiento concertado de grupos de moléculas en masa, y generalmente en respuesta a un gradiente de presión. Entre los muchos ejemplos cotidianos de flujo másico podemos citar el movimiento del agua a través de una manguera, un río que fluye y la lluvia que cae.

Si se considera el flujo másico a través de una tubería, el flujo hidráulico depende del radio (r) de la tubería, de la viscosidad (η) del líquido y del gradiente de presión ($\Delta \Psi_p/\Delta x$) que dirige el flujo. Jean-Léonard-Marie Poiseuille (1797-1869) fue un físico y fisiólogo francés. La relación descrita anteriormente viene dada por una de las formas de la ecuación de Poiseuille:

$$\text{Flujo hidráulico} = \left(\frac{\pi \cdot r^4}{8\eta}\right) \cdot \left(\frac{\Delta \Psi_p}{\Delta x}\right) \qquad (3.2)$$

expresada en metros cúbicos por segundo (m^3 s^{-1}). Esta ecuación indica que el flujo másico impulsado por presión es muy sensible al radio de la tubería. Si el radio se duplica, el flujo hidráulico aumenta en un factor de 16 (2^4).

El flujo másico del agua impulsado por presión es el principal mecanismo responsable del transporte de agua a larga distancia por el xilema. También es el responsable de la mayor parte del flujo de agua a través del suelo y a través de las paredes celulares de los tejidos vegetales. A diferencia de la difusión, el flujo másico impulsado por presión es independiente de los gradientes de concentración del soluto, así como de los cambios en la viscosidad.

La ósmosis es impulsada por un gradiente de potencial hídrico

Las membranas de las células vegetales son **selectivamente permeables**, es decir, permiten que el agua y otras sustancias pequeñas no cargadas atraviesen la bicapa, mientras que restringen mucho el movimiento de sustancias grandes y, especialmente, de sustancias cargadas (Stein 1986).

Del mismo modo que la difusión y el flujo másico impulsado por presión, la **ósmosis** se produce espontáneamente en respuesta a fuerzas impulsoras. En la difusión simple, las sustancias se mueven a favor del gradiente de concentración; en el flujo másico impulsado por presión las sustancias se mueven a favor de un gradiente de presión; en la ósmosis, los dos tipos de gradientes afectan al transporte (Finkelstein 1987). *La dirección y el flujo hidráulico a través de una membrana no están determinados únicamente por el gradiente de concentración de agua o por el gradiente de presión, sino por la suma de los dos tipos de fuerzas impulsoras.*

Pronto veremos cómo la ósmosis impulsa el movimiento del agua a través de las membranas. Primero, no obstante, analizaremos el concepto de fuerza impulsora compuesta o total, que representa el gradiente de energía libre del agua.

El potencial químico del agua representa su estado de energía libre

Todos los organismos vivos, incluidas las plantas, necesitan un aporte continuo de energía libre para mantener y reparar sus estructuras altamente organizadas, así como para crecer y reproducirse. Procesos como las reacciones bioquímicas, la acumulación de solutos y el transporte a larga distancia son impulsados por un aporte de energía libre a la planta. (Para un análisis más detallado del concepto termodinámico de la energía libre, véase el capítulo 2 en la página web.)

El **potencial químico** del agua es una expresión cuantitativa de la energía libre asociada con el agua. En termodinámica, la energía libre representa el potencial para realizar trabajo. Es importante destacar que el potencial químico es una cantidad relativa: se expresa como la diferencia entre el potencial de una sustancia en un estado determinado y el potencial de la misma sustancia en un estado de referencia. Las unidades de potencial químico son energía por mol de sustancia (J mol^{-1}).

Por razones históricas, los fisiólogos vegetales suelen utilizar un parámetro relacionado denominado **potencial hídrico**, que es el potencial químico del agua dividido por el volumen parcial molal del agua (el volumen de 1 mol de agua): 18×10^{-6} m^3 mol^{-1}. El potencial hídrico es una medida de la energía libre del agua por unidad de volumen (J m^{-3}). Estas unidades son equivalentes a las unidades de presión como el pascal, que es una unidad de medida común para el potencial hídrico. Veamos más en profundidad un concepto tan importante como es el potencial hídrico.

Tres son los factores principales que contribuyen al potencial hídrico celular

Los principales factores que contribuyen al potencial hídrico de la planta son: *concentración, presión y gravedad.* El potencial hídrico se simboliza por Ψ_w (la letra griega psi), y para una solución se puede descomponer en sus componentes individuales, que se expresan normalmente como la siguiente suma:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g \quad (3.3)$$

Los términos Ψ_s, Ψ_p y Ψ_g representan los efectos de los solutos, la presión y la gravedad, respectivamente, sobre la energía libre del agua. (Las expresiones alternativas para los componentes del potencial hídrico se analizan en el **tema web 3.3**.) El estado de referencia usado para definir el potencial hídrico es el agua pura a temperatura ambiente y presión atmosférica. Consideraremos ahora cada uno de los componentes de la ecuación 3.3 por separado.

Los solutos. El término Ψ_s llamado **potencial de soluto** o **potencial osmótico** representa el efecto de los solutos disueltos sobre el potencial hídrico. Los solutos disminuyen la energía libre del agua por dilución de la misma. Se trata principalmente de un efecto de la entropía, es decir, la mezcla de solutos y agua aumenta el desorden del sistema y disminuye su energía libre. Esto significa que el potencial osmótico es independiente de la naturaleza específica del soluto. En el caso de soluciones diluidas de sustancias no disociables como la glucosa, el potencial osmótico puede calcularse mediante la **ecuación de van't Hoff**:

$$\Psi_s = -RTc_s \quad (3.4)$$

donde R es la constante de los gases (8,32 J mol^{-1} K^{-1}), T es la temperatura absoluta (en grados kelvin o K), y c_s es la concentración de solutos expresada como **osmolalidad** (moles totales de solutos disueltos por litro de agua [mol L^{-1}]). El signo negativo indica que el soluto disuelto reduce el potencial hídrico de la solución respecto al estado de referencia que es el agua pura.

TABLA 3.2
Valores de *RT* y potenciales osmóticos de soluciones a varias temperaturas

Temperatura (°C)	RT[a] (L MPa mol^{-1})	Potencial osmótico (MPa) de soluciones con concentración de soluto en mol L^{-1} de agua: 0,01	0,10	1,00	Potencial osmótico del agua de mar (MPa)
0	2,271	–0,0227	–0,227	–2,27	–2,6
20	2,436	–0,0244	–0,244	–2,44	–2,8
25	2,278	–0,0248	–0,248	–2,48	–2,8
30	2,519	–0,0252	–0,252	–2,52	–2,9

[a] R = 0,0083143 L MPa mol^{-1} K^{-1} = 8,32 J mol^{-1} K^{-1}

La tabla 3.2 muestra los valores de RT para varias temperaturas y los valores de Ψ_s de soluciones de diferentes concentraciones de solutos. En el caso de solutos iónicos, que se disocian en dos o más partículas, c_s debe multiplicarse por el número de partículas disociadas para indicar el incremento en el número de partículas disueltas.

La ecuación 3.4 es válida para soluciones «ideales» de baja concentración o diluidas. Las soluciones reales suelen desviarse de la ideal, sobre todo a concentraciones elevadas, por ejemplo, superiores a 0,1 mol L^{-1}. En nuestro estudio del potencial hídrico, asumiremos que estamos trabajando con soluciones ideales (Friedman 1986; Nobel 1999).

La presión. El término Ψ_p indica la presión hidrostática de la solución. Las presiones positivas aumentan el potencial hídrico, mientras que las negativas lo reducen. A veces Ψ_p se denomina *potencial de presión.* La presión hidrostática positiva en las células vegetales es lo que se conoce como *presión de turgencia.* El valor de Ψ_p puede ser negativo, tal como ocurre en el xilema y en las paredes entre células vecinas, donde se puede producir una *tensión* o *presión hidrostática negativa.* Como veremos, las presiones negativas fuera de las células son muy importantes en el movimiento del agua a grandes distancias a través de la planta.

La presión hidrostática se mide como la desviación de la presión atmosférica (para detalles, véase el **tema web 3.5**). Recuérdese que en el estado de referencia el agua está a presión atmosférica, de modo que, por definición, Ψ_p = 0 MPa para el agua en el estado de referencia. Así, el valor de Ψ_p para el agua pura en un recipiente abier-

to es de 0 MPa, aun cuando su presión absoluta es aproximadamente 0,1 MPa (1 atmósfera).

La gravedad. La gravedad es la responsable del movimiento hacia abajo del agua, a menos que a la fuerza de gravedad se le oponga una fuerza igual y opuesta. El término Ψ_g depende de la altura (h) del agua por encima del nivel de referencia, de la densidad del agua (ρ_w) y de la aceleración debida a la fuerza gravitacional (g). En forma de símbolos, la expresión es la siguiente:

$$\Psi_g = \rho_w g h \qquad (3.5)$$

donde $\rho_w g$ tiene un valor de 0,01 MPa m^{-1}. De este modo, una distancia vertical de 10 m implica un cambio de 0,1 MPa en el potencial hídrico.

Cuando consideramos el transporte de agua a nivel celular, el componente gravitacional (Ψ_g) suele omitirse debido a que es despreciable en comparación con el potencial osmótico y con la presión hidrostática. Así, la ecuación 3.3 puede simplificarse como:

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p \qquad (3.6)$$

Cuando se trata de suelos secos, de semillas y de paredes celulares, es frecuente que se introduzca otro factor, el denominado potencial mátrico, que se analiza en el **tema web 3.4**.

El potencial hídrico en la planta. El potencial hídrico y sus componentes influyen fuertemente en el crecimiento celular, la fotosíntesis, y la productividad de los cultivos. Comparable a la temperatura en el cuerpo de los humanos, el potencial hídrico es un buen indicador de la salud de la planta. Los fisiólogos vegetales han dedicado innumerables esfuerzos a diseñar métodos precisos y factibles para determinar el estado hídrico de la planta. Algunos de los instrumentos que se han utilizado para medir Ψ_w, Ψ_s y Ψ_p se describen en el **tema web 3.5**.

El agua entra en la célula siguiendo un gradiente de potencial hídrico

En esta sección ilustraremos el comportamiento osmótico de las células vegetales mediante diferentes ejemplos numéricos. Imagine un recipiente abierto lleno de agua pura a 20 °C (Figura 3.9A). Dado que el agua está en contacto con la atmósfera, la presión hidrostática del agua es la misma que la presión atmosférica (Ψ_p = 0 MPa). Como no hay solutos en el agua, Ψ_s = 0 MPa; por tanto, el potencial hídrico del agua es 0 MPa ($\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p$).

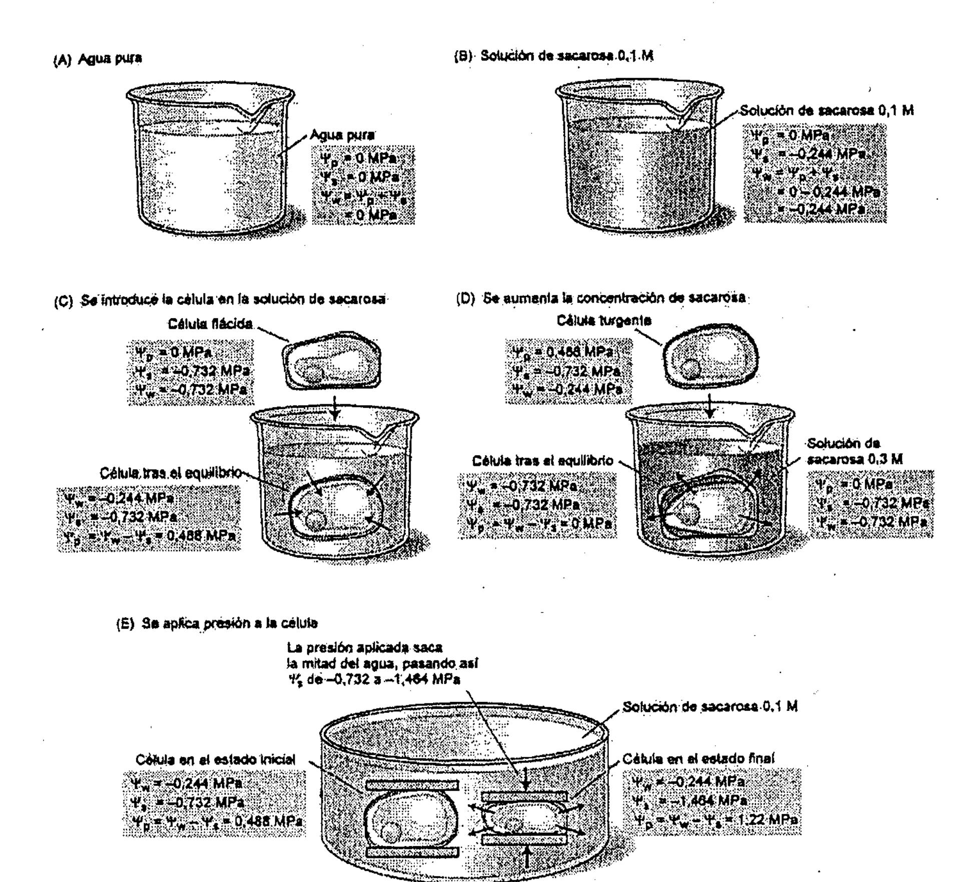


Figura 3.9 Cinco ejemplos que ilustran el concepto de potencial hídrico y sus componentes. (A) Agua pura. (B) Solución de sacarosa 0,1 M. (C) Se introduce una célula flácida en una solución de sacarosa 0,1 M. Como el potencial hídrico inicial de la célula es menor que el potencial hídrico de la solución, la célula incorpora agua. En el equilibrio, el potencial hídrico del agua y el de la solución se igualan y, como consecuencia de ello, se obtiene una célula con una presión de turgencia positiva. (D) El aumento de la concentración de sacarosa de la solución hace que la célula pierda agua. El aumento de la concentración de sacarosa reduce el potencial hídrico de la solución, lo que provoca tanto la salida de agua como la reducción de la presión de turgencia de la célula. En este caso, el protoplasto es capaz de separarse de la pared celular (la célula se plasmoliza) porque las moléculas de sacarosa son capaces de atravesar los poros relativamente grandes de la pared celular. Por el contrario, cuando una célula se seca al aire (por ejemplo, la célula flácida del panel C), la plasmólisis no ocurre porque el agua es retenida en la pared celular por fuerzas capilares, lo que evita que el aire se infiltre en cualquier hueco entre la membrana plasmática y la pared celular. (E) Otra forma de hacer que la célula pierda agua es presionarla lentamente entre dos placas. En este caso, cuando se elimina la mitad del agua de la célula, el potencial osmótico aumenta en un factor de 2.

Ahora imagine que se disuelve sacarosa en agua hasta alcanzar una concentración de 0,1 M (Figura 3.9B). Esta adición provoca que el potencial osmótico (Ψ_s) se reduzca a –0,244 MPa (véase la tabla 3.2) y que el potencial hídrico (Ψ_w) disminuya a –0,244 MPa.

A continuación, considere una célula vegetal flácida (es decir, una célula sin presión de turgencia) con una concentración interna total de soluto de 0,3 M (Figura 3.9C). Esta concentración de soluto genera un potencial osmótico (Ψ_s) de –0,732 MPa. Como la célula está flácida, la presión interna es la misma que la presión ambiental, por lo que el valor de la presión hidrostática (Ψ_P) es 0 MPa, y el potencial hídrico de la célula es de –0,732 MPa.

¿Qué ocurrirá si la célula se coloca en un recipiente con sacarosa 0,1 M (véase la figura 3.9C)? Como el potencial hídrico de la solución de sacarosa (Ψ_w = –0,244 MPa; véase la figura 3.9B) es mayor que el potencial hídrico de la célula (Ψ_w = –0,732 MPa), el agua se moverá de la solución de sacarosa a la célula (de mayor potencial hídrico a menor).

Como las células vegetales están rodeadas por una pared celular rígida, incluso un pequeño aumento en el volumen celular provoca un gran aumento en la presión hidrostática del interior de la célula. A medida que el agua entra en la célula, la pared celular se expande por el aumento de volumen del protoplasto. La pared celular resiste esta extensión presionando el protoplasto. Este fenómeno es análogo al inflado de una pelota de baloncesto con aire, excepto que el aire es compresible y el agua es poco compresible.

Así, a medida que el agua entra en la célula, la presión hidrostática o presión de turgencia (Ψ_P) de la célula aumenta. Consecuentemente, el potencial hídrico celular (Ψ_w) aumenta y la diferencia entre el potencial hídrico del interior y el de la solución externa de sacarosa ($\Delta\Psi_w$) se reduce. En algunos casos, la célula aumenta su Ψ_P lo suficiente como para que el Ψ_w celular alcance el mismo valor que el de la solución de sacarosa. En este punto se alcanza el equilibrio ($\Delta\Psi_w$ = 0 MPa) y cesa el transporte neto de agua.

La pequeña cantidad de agua que se ha incorporado no afecta significativamente a la concentración de soluto de la solución exterior, cuyo volumen es muy superior al de la célula; por tanto, no se alteran los valores de Ψ_s, Ψ_p y Ψ_w de la solución de sacarosa. Así pues, en el equilibrio, $\Psi_{w(célula)} = \Psi_{w(solución)}$ = –0,244 MPa.

El cálculo exacto de Ψ_p y Ψ_s de la célula requiere que conozcamos el cambio de volumen celular. Sin embargo, si asumimos que las células tienen una pared celular rígida, podemos considerar que el volumen celular aumentará muy poco. Con esto podemos hacer la aproximación de que el $\Psi_{s(célula)}$ permanecerá casi sin cambios durante el proceso de equilibrado, y que el $\Psi_{s(solución)}$ se mantendrá en –0,732 MPa. Reordenando la ecuación 3.6 se puede calcular la presión hidrostática de la célula como: $\Psi_p = \Psi_w - \Psi_s$ = (–0,244) – (–0,732) = 0,488 MPa.

El agua también puede abandonar la célula en respuesta a un gradiente de potencial hídrico

El agua también puede abandonar la célula por ósmosis. Si, en el ejemplo anterior, sacamos la célula vegetal de la solución 0,1 M de sacarosa y la introducimos en una solución 0,3 M (Figura 3.9D), cuyo $\Psi_{w(solución)}$ (–0,732 MPa) es más negativo que el $\Psi_{w(célula)}$ (-0,244 MPa), el agua saldrá de la célula turgente a la solución.

A medida que el agua abandone la célula, el volumen celular se reducirá, y a medida que el volumen celular se reduce, Ψ_P y Ψ_w de la célula disminuyen también hasta que $\Psi_{w(célula)} = \Psi_{w(solución)}$ = -0,732 MPa. De la ecuación del potencial hídrico (ecuación 3.6) se puede calcular que en el equilibrio, Ψ_P = 0 MPa. Como antes, asumimos que la variación del volumen celular es pequeña y así podemos ignorar el cambio en Ψ_s.

Si aplastamos lentamente la célula turgente presionándola entre dos placas (Figura 3.9E), aumentamos de forma efectiva el Ψ_P de la célula, de modo que Ψ_w de la célula aumentará y crearemos una $\Delta\Psi_w$ tal que el agua *saldrá* de la célula. Si continuamos presionando hasta que la mitad del agua de la célula haya salido y la mantenemos en estas condiciones, la célula alcanzará un nuevo equilibrio. Como vimos en el ejemplo anterior, en el equilibrio, $\Delta\Psi_w$ = 0 MPa y la cantidad de agua añadida a la solución externa es tan pequeña que se puede ignorar. La célula volverá al valor de Ψ_w que tenía antes de ser apretada; sin embargo, los componentes de Ψ_w de la célula serán muy diferentes.

Como la mitad del agua de la célula ha salido por la compresión, mientras que los solutos se han mantenido dentro de la célula (la membrana es selectivamente permeable), la solución celular en el equilibrio está doblemente concentrada y, por lo tanto Ψ_s es más negativo (–0,732 × 2 = –1,466 MPa). Conociendo los valores finales de Ψ_w y Ψ_s, podemos calcular la presión de turgencia usando la ecuación 3.6, así, $\Psi_P = \Psi_w - \Psi_s$ = (–0,244) – (–1,464) = 1,22 MPa. En nuestro ejemplo, empleamos una fuerza externa para cambiar el volumen celular sin cambiar el potencial hídrico. En la naturaleza, es el potencial hídrico del entorno de una célula el que cambia, y la célula gana o pierde agua hasta que su Ψ_w se iguala con el de su entorno.

Merece destacarse un punto en común a todos los ejemplos: *El flujo de agua es un proceso pasivo. Es decir, el movimiento del agua responde a fuerzas físicas y se produce hacia las regiones de menor potencial hídrico o de menor energía libre.* No hay «bombas» metabólicas (reacciones impulsadas por la hidrólisis de ATP) que empujen al agua desde una zona a otra. Esta regla es válida sólo cuando el agua es la única sustancia transportada. No obstante, cuando los solutos son transportados a corta distancia a través de membranas (véase el capítulo 6) y a larga distancia por el floema (véase el capítulo 10), el transporte del agua puede estar acoplado al transporte del soluto y este acoplamiento puede mover el agua en contra de su gradiente de potencial hídrico.

Por ejemplo, en el transporte de azúcares, aminoácidos u otras moléculas pequeñas por transportadores de membrana se pueden llegar a mover hasta 260 moléculas de agua por molécula de soluto transportada a través de la membrana (Loo y col. 1996). Este transporte de agua puede ocurrir incluso en contra del gradiente de potencial hídrico (es decir, hacia un potencial hídrico mayor) debido a que la energía libre perdida por el soluto compensa la energía libre ganada por el agua. El cambio neto en la energía libre permanece negativo. En el floema, el flujo másico de los solutos y el agua en el interior de los tubos cribosos se produce a favor de gradiente de presión hidrostática (turgencia) más que por ósmosis. Así, en el floema, el agua puede ser transportada de regiones con menores potenciales hídricos (por ejemplo, las hojas) a regiones con mayores potenciales hídricos (por ejemplo, las raíces). *No obstante, en la gran mayoría de los casos, el movimiento del agua en las plantas se produce desde potenciales hídricos más altos hacia los más bajos.*

Pequeños cambios en el volumen celular provocan grandes cambios en la presión de turgencia

Las paredes celulares impiden que se produzcan grandes cambios en el volumen celular provocados por los grandes cambios del potencial hídrico que se experimentan como consecuencia de la pérdida de agua diaria por la transpiración asociada con la fotosíntesis (véase el capítulo 4). Como las células vegetales tienen paredes celulares rígidas, un cambio en Ψ_w normalmente va acompañado de un cambio en Ψ_p y de un pequeño cambio en el volumen celular (protoplasto).

Este fenómeno queda ilustrado en las curvas de Ψ_w, Ψ_p y Ψ_s en función del volumen celular relativo. En el ejemplo de la célula hipotética de la figura 3.10, a medida que el Ψ_w disminuye desde 0 a –2 MPa, el volumen celular se reduce tan sólo un 5%. La mayor parte de este descenso del Ψ_w es debido a la reducción del Ψ_p (de aproximadamente 1,2 MPa); el Ψ_s disminuye unos 0,3 MPa como resultado de la pérdida de agua por la célula y, consecuentemente, del aumento en la concentración de solutos. Compárese esto con los cambios de volumen que se producen en células sin pared.

Las mediciones del potencial hídrico celular y del volumen celular (véase la figura 3.10) se pueden usar para cuantificar la influencia de las paredes celulares en el estado hídrico de las células vegetales.

1. La presión de turgencia ($\Psi_p > 0$) existe sólo cuando las células están relativamente bien hidratadas. En la mayoría de las células la presión de turgencia se aproxima a cero a medida que el volumen celular relativo disminuye de un 10 a un 15 %. Sin embargo, en células con paredes celulares rígidas (por ejemplo,

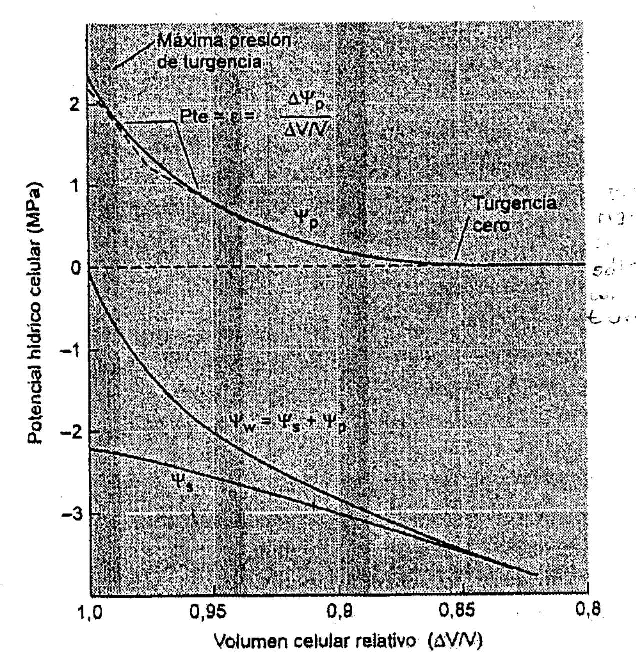


Figura 3.10 Relación entre el potencial hídrico de la célula (Ψ_w) y sus componentes (Ψ_P y Ψ_S), con el volumen celular relativo (ΔV/V). Las curvas muestran que la presión de turgencia (Ψ_P) disminuye marcadamente con el 5 % inicial de disminución del volumen celular. Comparativamente, el potencial osmótico (Ψ_S) cambia muy poco. A medida que el potencial disminuye, por debajo de 0,9 en este ejemplo, la situación se invierte: la mayor parte de la variación del potencial hídrico es debida a la caída del Ψ_s acompañada por un cambio relativamente pequeño en la presión de turgencia. La pendiente de la curva que ilustra la relación del Ψ_P respecto al volumen relativo es una medida del módulo de elasticidad de la célula (ε) (una medida de la rigidez de la pared). Obsérvese que ε no es constante y disminuye a medida que lo hace la presión de turgencia. (Según Tyree y Jarvis 1982, realizado en brotes de abeto Sitka).

las células del mesofilo en las hojas de muchas palmeras), el cambio de volumen asociado a la pérdida de turgencia puede ser mucho menor, mientras que en células con paredes extremadamente elásticas, como las células que almacenan agua en el tallo de los cactus, el cambio de volumen es sustancialmente mayor.

2. La curva del Ψ_p de la figura 3.10 proporciona una forma de medir la rigidez de la pared celular, simbolizada por ε (letra griega epsilon): $\varepsilon = \Delta\Psi_p/\Delta$(volumen relativo). ε es la pendiente de la curva del Ψ_p. e no es constante sino que disminuye a medida que disminuye la presión de turgencia, debido a que las paredes celulares no lignificadas son rígidas sólo cuando la presión de turgencia las coloca bajo tensión. Tales células actúan como una pelota de baloncesto:

la pared está rígida (tiene alto ε) cuando la pelota está hinchada, pero se ablanda y se arruga ($\varepsilon = 0$) cuando la pelota pierde presión.

3. Cuando ε y Ψ_p son bajos, los cambios en el potencial hídrico se deben a cambios en Ψ_s (nótese cómo las curvas del Ψ_w y del Ψ_s convergen cuando el volumen celular relativo se aproxima al 85%).

La magnitud del transporte de agua depende de la fuerza impulsora y de la conductividad hidráulica

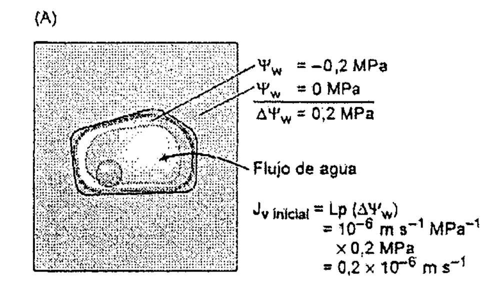
Hemos visto que el agua se mueve a través de una membrana en respuesta a un gradiente de potencial hídrico. La dirección de flujo se determina por la dirección del gradiente de Ψ_w, y la tasa del movimiento de agua es proporcional a la magnitud del gradiente impulsor. Sin embargo, para una célula que experimente un cambio en el potencial hídrico de sus alrededores (véase, por ejemplo, la figura 3.9), el movimiento del agua a través de la membrana celular disminuye con el tiempo, a medida que los potenciales hídricos interior y exterior convergen (Figura 3.11). La velocidad se aproxima a cero de forma exponencial (véase Dainty 1976) con un tiempo medio (los tiempos medios caracterizan de forma adecuada los procesos que cambian exponencialmente con el tiempo) definido por la siguiente ecuación:

$$t_{1/2} = \left(\frac{0.693}{(A)\cdot(Lp)}\right)\cdot\left(\frac{V}{\varepsilon - \Psi_s}\right)$$

donde V y A son, respectivamente, el volumen y la superficie de la célula, y L_p es la **conductividad hidráulica** de las membranas celulares. La conductividad hidráulica expresa la facilidad de movimiento del agua a través de una membrana, y tiene unidades de volumen de agua por unidad de superficie de membrana por unidad de tiempo y por unidad de fuerza impulsora (por ejemplo, $m^3\ m^{-2}\ s^{-1}\ MPa^{-1}$). Para un análisis más detallado sobre la conductividad hidráulica, consulte el **tema web 3.6.**

Un tiempo medio corto significa que se alcanza el equilibrio rápidamente. Así, las células con una relación superficie-volumen grande, con una membrana de alta conductividad hidráulica y con una pared celular rígida (elevado valor de ε) llegarán rápidamente al equilibrio con su entorno. Los tiempos medios típicos de las células están entre 1 y 10 s, aunque algunos son mucho más cortos (Steudle 1989). Estos tiempos medios tan pequeños significan que las células aisladas llegan al equilibrio con el medio circundante en menos de 1 minuto. Para tejidos multicelulares, los tiempos medios pueden ser mucho mayores.

(A)



(B)

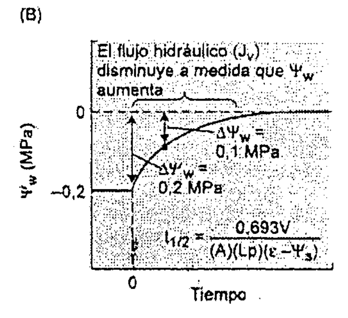


Figura 3.11 La tasa de transporte de agua al interior de la célula depende de la diferencia de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) y de la conductividad hidráulica de la membrana (L_p). En este ejemplo, (A) la diferencia del potencial hídrico inicial es de −0,2 MPa y L_p es 10^{-6} m s^{-1} MPa^{-1}. Estos valores provocan un flujo hidráulico inicial de $0{,}2 \times 10^{-6}$ m s^{-1}. (B) A medida que el agua es incorporada a la célula, la diferencia de potencial hídrico disminuye, por lo que se ralentiza la incorporación de agua. Este efecto sigue un comportamiento de decaimiento exponencial, con un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) que depende de los siguientes parámetros: volumen (V), área superficial (A), L_p, módulo de elasticidad (ε) y potencial osmótico celular (Ψ_s).

El concepto de potencial hídrico es útil para evaluar el estado hídrico de una planta

El concepto de potencial hídrico tiene dos implicaciones principales. En primer lugar, el potencial hídrico impulsa el transporte a través de las membranas celulares. Y en segundo lugar, el potencial hídrico se usa con frecuencia como una medida del *estado hídrico* de una planta. Debido a las pérdidas de agua por transpiración, las plantas rara vez están completamente hidratadas. El déficit de agua provoca la inhibición del crecimiento vegetal y la fotosíntesis, entre otros efectos perjudiciales. La figura 3.12 contiene una lista de los cambios fisiológicos que se producen en una planta cuando se seca.

El proceso que se ve más afectado por el déficit hídrico es el crecimiento celular. Un estrés hídrico grave conduce a la inhibición de la división celular, la inhibición de la síntesis de pared y de proteínas, la acumulación de solutos, el cierre de los estomas

y la inhibición de la fotosíntesis. El potencial hídrico es una medida de lo hidratada que está una planta y proporciona un índice relativo del *estrés hídrico* experimentado por la planta (véase el capítulo 25).

La figura 3.12 muestra también los valores de Ψ_w representativos de diferentes estadios del estrés hídrico. Las hojas de plantas bien regadas tienen valores de Ψ_w del orden de –0,2 a –1,0 MPa, mientras que las hojas de plantas de climas áridos tienen valores muy inferiores, de –2 a –5 MP a bajo condiciones extremas. Puesto que el transporte de agua es un proceso pasivo, las plantas sólo pueden incorporar agua cuando el valor de Ψ_w de la planta es inferior al Ψ_w del suelo. A medida que el suelo se seca, la planta se deshidrata (alcanza un Ψ_w menor). Si no fuera así, el suelo comenzaría a extraer agua de la planta.

Los componentes del potencial hídrico varían en función de las condiciones de crecimiento y de la localización en la planta

Del mismo modo que los valores del Ψ_w varían con las condiciones de crecimiento y el tipo de planta, también lo hacen los valores del Ψ_s. En las células de plantas de cultivo bien regadas (como la lechuga, las plántulas de pepino y las hojas de judía) el Ψ_s puede tener valores de hasta -0,5 MPa, aunque los valores habituales suelen estar entre –0,8 y –1,2 MPa. El límite superior para el Ψ_s de la célula está determinado, probablemente, por la concentración mínima de iones disueltos, metabolitos y proteínas en el citoplasma de células vivas.

En el otro extremo se sitúan las plantas sometidas a sequía, con valores de Ψ_s mucho más bajos. De hecho, el estrés hídrico provoca la acumulación de solutos en el citoplasma y en la vacuola, permitiendo a la planta mantener la presión de turgencia a pesar del bajo potencial hídrico.

Los tejidos vegetales que almacenan grandes concentraciones de sacarosa y otros azúcares, como las raíces de la remolacha azucarera, los tallos de la caña de azúcar y los granos de uva, también tienen valores bajos de Ψ_s. Valores de hasta –2,5 MPa son normales. Las plantas que crecen en ambientes salinos, denominadas **halófitas**, poseen valores muy bajos de Ψ_s. Un Ψ_s bajo reduce el Ψ_w celular lo suficiente como para que la planta pueda extraer agua del agua salina, impidiendo la absorción de niveles excesivos de sales. La mayoría de las plantas de cultivo son incapaces de sobrevivir en agua marina que, debido a la gran cantidad de sal que tiene disuelta, tiene un potencial hídrico menor del que los tejidos de la planta pueden alcanzar manteniendo su competencia funcional.

Aunque el Ψ_s en las células puede ser bastante negativo, la solución apoplástica que rodea las células, es decir, en las paredes celulares y en el xilema, puede tener bajas concentraciones de solutos. Así, el Ψ_s en esta parte de la planta suele ser mucho

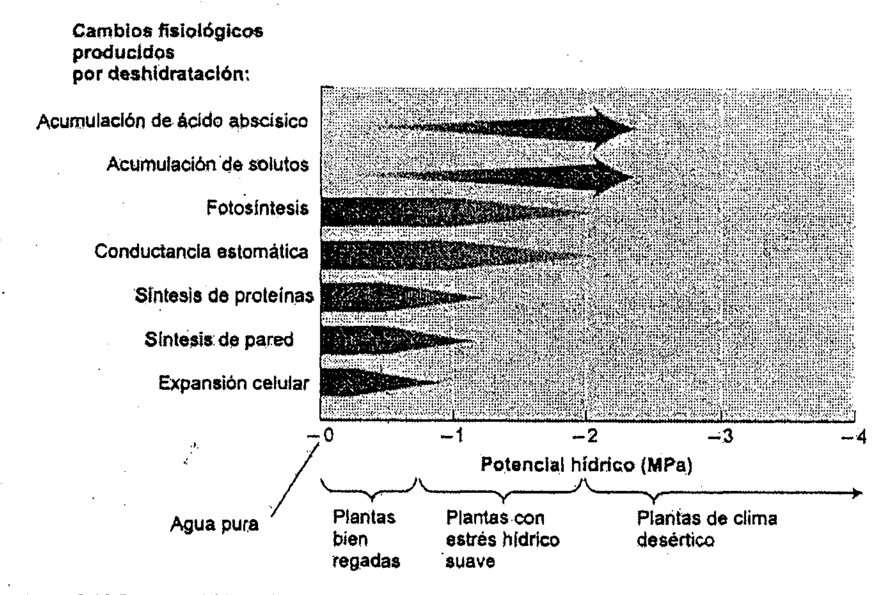


Figura 3.12 Potencial hídrico de plantas en diferentes condiciones de crecimiento, y sensibilidad de varios procesos fisiológicos al potencial hídrico. El grosor de la barra corresponde a la magnitud del proceso. Por ejemplo, la expansión celular disminuye a medida que cae el potencial hídrico (se hace más negativo). El ácido abscísico es la hormona que induce el cierre estomático durante el estrés hídrico (véase el capítulo 23). (Según Hsiao 1979).

mayor, por ejemplo de –0,1 a 0 MPa. Los potenciales hídricos negativos en el xilema y las paredes celulares suelen ser debidos a Ψ_p negativos. Los valores del Ψ_p en plantas hortícolas bien regadas varían en el rango de 0,1 a 1 MPa, dependiendo del valor de Ψ_s dentro de la célula.

Una presión de turgencia (Ψ_p) positiva es importante por dos razones. En primer lugar, el crecimiento de las células vegetales necesita presión de turgencia para expandir las paredes celulares. Un descenso del Ψ_p en condiciones de déficit hídrico puede explicar por qué el crecimiento celular es tan sensible al estrés hídrico (véase el capítulo 25). La segunda razón por la que la presión de turgencia es tan importante es que aumenta la rigidez mecánica de células y tejidos. Esta función de la presión de turgencia celular es particularmente importante en los tejidos jóvenes no lignificados que carecen de un soporte mecánico propio en ausencia de una alta presión interna. El **marchitamiento** vegetal (que conduce a la flacidez) se produce cuando la presión de turgencia en el interior de las células de los tejidos tiende a cero. En el **tema web 3.7** se analiza la plasmólisis, la contracción del protoplasto y su separación de la pared celular, que se produce cuando las células en solución pierden agua.

Mientras que la solución dentro de las células puede tener un valor positivo y grande de Ψ_p, el agua fuera de la célula puede tener valores negativos de Ψ_p. En el xilema de plantas con transpiración intensa, el Ψ_p es negativo y puede alcanzar valores de −1 MPa o inferiores. El valor del Ψ_p en las paredes celulares y en el xilema varía considerablemente, dependiendo de la intensidad de la transpiración y de la altura de la planta. Durante el mediodía, cuando la transpiración es máxima, el Ψ_p del xilema alcanza los valores más negativos. Por la noche, cuando la transpiración es baja y la planta se rehidrata tienden a subir.

RESUMEN

El agua es importante en la vida de las plantas porque proporciona la matriz y el medio en el que tienen lugar la mayoría de los procesos bioquímicos esenciales. La estructura y propiedades del agua tienen una influencia notable en la estructura y propiedades de las proteínas, las membranas, los ácidos nucleicos y otros componentes celulares.

En la mayoría de las plantas terrestres, el agua se libera continuamente a la atmósfera y se incorpora del suelo. El movimiento del agua es impulsado por una disminución de la energía libre, y se puede producir por difusión, por flujo másico, o por combinación de estos dos mecanismos fundamentales de transporte. El agua difunde porque sus moléculas están en constante agitación térmica, lo que tiende a eliminar cualquier diferencia de concentración. El agua se mueve por flujo másico en respuesta a una diferencia de presión, siempre que haya una ruta adecuada para ello. La ósmosis, el movimiento del agua a través de membranas, depende de un gradiente de la energía libre del agua a través de la membrana, gradiente que normalmente se mide como diferencia de potencial hídrico.

La concentración de solutos y la presión hidrostática son los dos factores principales que afectan al potencial hídrico, aunque la gravedad también es importante cuando hay grandes distancias verticales implicadas. Estos componentes del potencial hídrico se pueden sumar como sigue: $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$. Las células vegetales llegan a alcanzar el equilibrio de potencial hídrico con su entorno por absorción o pérdida de agua. Normalmente este cambio en el volumen celular produce un cambio en Ψ_p, que va acompañado de pequeños cambios en Ψ_s. La tasa de transporte de agua a través de una membrana depende de la diferencia de potencial hídrico a través de la membrana y de su conductividad hidráulica.

Además de su importancia en el transporte, el potencial hídrico es una medida útil del estado hídrico de la planta. Como veremos en el capítulo 4, la difusión, el flujo másico y la ósmosis facilitan el movimiento del agua desde el suelo a través de la planta hasta la atmósfera.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

3.1 Cálculo del ascenso por capilaridad
La cuantificación del ascenso por capilaridad permite valorar el papel de este fenómeno en el movimiento del agua en las plantas.

3.2 Cálculo del tiempo medio de la difusión
La valoración del tiempo necesario para que una molécula como la glucosa difunda a través de las células, tejidos u órganos, muestra que la difusión sólo tiene importancia fisiológica cuando se produce en distancias cortas.

3.3 Formas alternativas de expresión de los componentes del potencial hídrico
Los fisiólogos vegetales han desarrollado diversas formas de expresión para definir el potencial hídrico de las plantas. La comparación de estas diferentes expresiones de algunas definiciones clave aporta una mejor comprensión de las relaciones hídricas.

3.4 El potencial mátrico
Breve descripción del potencial mátrico, utilizado en la cuantificación del potencial químico del agua en los suelos, en las semillas y en las paredes celulares.

3.5 La medición del potencial hídrico
Descripción detallada de los métodos disponibles para medir el potencial hídrico en células y tejidos vegetales.

3.6 Comprensión de la conductividad hidráulica
La conductividad hidráulica, una medida de la permeabilidad de la membrana al agua, es uno de los factores que determina la velocidad a la que se mueve el agua dentro de las plantas.

3.7 Marchitamiento y plasmólisis
La plasmólisis es el principal cambio estructural que se produce como consecuencia de una gran pérdida de agua por ósmosis.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Dainty J. (1976) Water relations of plant cells. En *Transport in Plants*, Vol. 2, Part A: *Cells* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 2), U. Lüttge and M. G. Pitman, eds., Springer, Berlin, págs. 12–35.
Finkelstein A. (1987) *Water Movement through Lipid Bilayers, Pores, and Plasma Membranes: Theory and Reality*. Wiley, New York.
Friedman M. H. (1986) *Principles and Models of Biological Transport*. Springer Verlag, Berlin.
Hsiao T. C. (1979) Plant responses to water deficits, efficiency, and drought resistance. *Agricult. Meteorol.* 14: 59–84.
Loo D. D. F., Zeuthen T., Chandy G. y Wright E. M. (1996) Cotransport of water by the Na^+/glucose cotransporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 13367–13370.
Nobel P. S. (1999) *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, 2ª ed. Academic Press, San Diego, CA.
Schäffner A. R. (1998) Aquaporin function, structure, and expression: Are there more surprises to surface in water relations? *Planta* 204: 131–139.
Stein W. D. (1986) *Transport and Diffusion across Cell Membranes*. Academic Press, Orlando, FL.
Steudle E. (1989) Water flow in plants and its coupling to other processes: An overview. *Methods Enzymol.* 174: 183–225.
Tajkhorshid E., Nollert P., Jensen M. Ø., Miercke L. H. W., O'Connell J., Stroud R. M. y Schulten K. (2002) Control of the selectivity of the aquaporin water channel family by global orientation tuning. *Science* 296: 525–530.
Tyerman S. D., Bohnert H. J., Maurel C., Steudle E. y Smith J. A. C. (1999) Plant aquaporins: Their molecular biology, biophysics and significance for plant–water relations. *J. Exp. Bot.* 50: 1055–1071.
Tyree M. T. y Jarvis P. G. (1982) Water in tissues and cells. En *Physiological Plant Ecology*, Vol. 2: *Water Relations and Carbon Assimilation* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 12B), O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond y H. Ziegler, eds., Springer, Berlin, págs. 35–77.
Weather and Our Food Supply (CAED Report 20). (1964) Center for Agricultural and Economic Development, Iowa State University of Science and Technology, Ames, IA.
Weig A., Deswarte C. y Chrispeels M. J. (1997) The major intrinsic protein family of *Arabidopsis* has 23 members that form three distinct groups with functional aquaporins in each group. *Plant Physiol.* 114: 1347–1357.
Whittaker R. H. (1970) *Communities and Ecosystems*. Macmillan, New York.

Capítulo 4

EL BALANCE HÍDRICO DE LAS PLANTAS

LA VIDA EN LA ATMÓSFERA TERRESTRE representa un reto formidable para las plantas terrestres. Por un lado, la atmósfera es su fuente de dióxido de carbono, necesario para la fijación de carbono durante la fotosíntesis. Las plantas, por tanto, necesitan acceder fácilmente a la atmósfera. Por otro lado, la atmósfera es relativamente seca y puede deshidratar a la planta. Para atender estas dos necesidades opuestas, optimización de la incorporación de dióxido de carbono y limitación de la pérdida de agua, las plantas han desarrollado adaptaciones para controlar las pérdidas de agua de las hojas y reemplazar el agua liberada a la atmósfera.

En este capítulo analizaremos los mecanismos y las fuerzas que impulsan el transporte de agua en la planta y entre la planta y su entorno. La pérdida de agua por transpiración desde la hoja está impulsada por un gradiente de concentración de vapor de agua. El transporte a larga distancia por el xilema está impulsado por gradientes de presión, del mismo modo que ocurre en el suelo. El transporte del agua a través de capas celulares, como el transporte radial por el córtex de la raíz, es complejo, pero responde a los gradientes del potencial hídrico a través de los tejidos.

A lo largo de la planta, el transporte de agua es pasivo, ya que su energía libre desciende a medida que se mueve. A pesar de esta naturaleza pasiva, el transporte de agua está finamente regulado por la planta para minimizar la deshidratación, principalmente a través de la regulación de la transpiración a la atmósfera. Comenzaremos el estudio del transporte de agua centrándonos en el agua en el suelo.

EL AGUA EN EL SUELO

El contenido de agua y la tasa de movimiento en el suelo dependen en gran medida del tipo de suelo y de su estructura. La tabla 4.1 muestra que las características físicas de diferentes suelos pueden variar mucho. En un extremo está la arena, cu-

TABLA 4.1
Características físicas de diferentes suelos

Suelo	Diámetro de la partícula (mm)	Área superficial por gramo (m^2)
Arena gruesa	2000-200	< 1 – 10
Arena fina	200-20	< 1 – 10
Limo	20-2	10 – 100
Arcilla	< 2	100 – 1000

yas partículas pueden tener un milímetro o más de diámetro. Los suelos arenosos tienen un área superficial por gramo de suelo relativamente baja y presentan grandes espacios entre las partículas.

En el otro extremo está la arcilla, con partículas de menos de 2 μm de diámetro. Los suelos arcillosos tienen áreas superficiales mucho mayores y espacios más pequeños entre partículas. Con la ayuda de material orgánico como el humus (materia orgánica descompuesta), las partículas de arcilla pueden agregarse en «granos» que ayudan a mejorar la aireación del suelo y la infiltración del agua.

Cuando un suelo está bien regado, ya sea por lluvia o por irrigación, el agua percola por gravedad a través de los espacios entre las partículas, desplazando parcialmente, y en algunos casos atrapando, el aire en estos canales. El agua puede estar presente en el suelo como una película adherida a la superficie de las partículas o puede llenar los canales entre partículas.

En los suelos arenosos, los espacios entre partículas son tan grandes que el agua tiende a drenar entre ellos y sólo permanece en la superficie de las partículas o en los intersticios entre partículas. En los suelos arcillosos el agua queda fuertemente retenida, ya que los canales son lo suficientemente pequeños como para que ésta no drene entre ellos (véase el **tema web 4.1**). La capacidad de los suelos de retener la humedad se denomina **capacidad de campo**. La capacidad de campo es el contenido de agua de un suelo después de que ha sido saturado con agua y se ha dejado drenar el exceso. Los suelos arcillosos y aquellos con un elevado contenido en humus tienen una gran capacidad de campo. Unos días después de la saturación, aún pueden retener un 40 % del agua en volumen. Por el contrario, los suelos arenosos típicos retienen sólo el 3 % del agua en volumen tras la saturación.

En las siguientes secciones examinaremos cómo la presión negativa en el agua del suelo afecta al potencial hídrico, cómo se mueve el agua por el suelo y cómo las raíces absorben el agua necesaria para la planta.

Una presión hidrostática negativa en el agua del suelo reduce su potencial hídrico

Al igual que el potencial hídrico de las células vegetales, el potencial hídrico de los suelos puede descomponerse en potencial osmótico y presión hidrostática. El potencial osmótico (Ψ_s; véase el capítulo 3) del agua del suelo es generalmente despreciable porque las concentraciones de solutos suelen ser bajas, con valores típicos de –0,02 MPa. Sin embargo, en suelos que contienen una elevada concentración de sales, Ψ_s es significativo, con valores de –0,2 MPa o menores.

El segundo componente del potencial hídrico del suelo es la presión hidrostática (Ψ_p) (Figura 4.1). Para suelos mojados, Ψ_p es próximo a cero. A medida que un suelo se seca, Ψ_p disminuye y puede llegar a ser bastante negativo. ¿De dónde procede la presión negativa en el agua del suelo?

Del análisis sobre la capilaridad, en el capítulo 3, sabemos que el agua tiene una elevada tensión superficial, que tiende a minimizar las interfases aire-agua. A medida que un suelo se seca, el agua desaparece inicialmente de la zona central de los espacios más grandes entre las partículas. Las fuerzas de adhesión provocan que el agua quede unida a la superficie de las partículas del suelo, desarrollando una gran área superficial entre el agua y el aire del suelo (Figura 4.2).

A medida que el contenido de agua del suelo disminuye, el agua se retira hacia los intersticios entre las partículas del suelo, generando interfases aire-agua curvadas en la superficie aire-agua. El agua desarrolla una tensión o presión negativa en estas superficies curvadas, que puede calcularse a partir de la siguiente fórmula:

$$\Psi_p = \frac{-2T}{r} \qquad (4.1)$$

donde T es la tensión superficial del agua (7,28 × 1^{-8} MPa m) y r es el radio de curvatura de la interfase aire-agua.

En suelos secos, el valor de Ψ_p del agua puede llegar a ser muy negativo debido a que el radio de curvatura de la superficie aire-agua se puede hacer muy pequeño. Por ejemplo, a una curvatura con r = 1 mm (el tamaño de las partículas mayores de arcilla) le corresponde un valor de Ψ_p de –0,15 MPa. Ψ_p puede alcanzar valores de –1 a –2 MPa a medida que la interfase aire-agua retrocede hacia los pequeños espacios entre las partículas de arcilla.

Los edafólogos suelen describir el potencial hídrico del suelo en términos de potencial mátrico (Jensen y col. 1998). Para un análisis detallado sobre la relación entre el potencial mátrico y el potencial hídrico, véase el **tema web 3.3**.

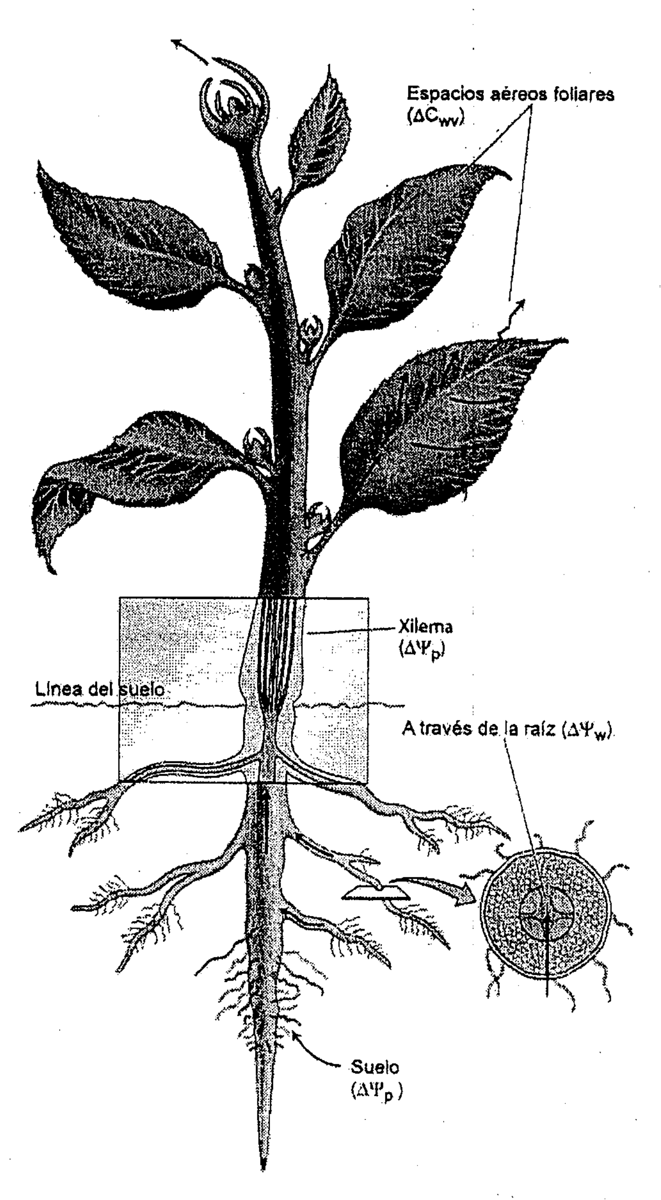


Figura 4.1 Principales fuerzas que impulsan el flujo de agua desde el suelo a la atmósfera a través de la planta: diferencias en la concentración de vapor de agua (Δc_{wv}), en la presión hidrostática ($\Delta\Psi_p$) y en el potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$).

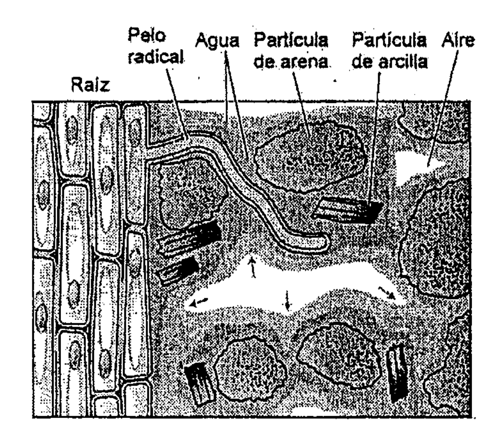


Figura 4.2 Los pelos radicales establecen un contacto estrecho con las partículas del suelo y aumenta la superficie disponible para la absorción del agua por la planta. El suelo es una mezcla de partículas (arena, arcilla, limo y materia orgánica), agua, solutos disueltos y aire. El agua está adsorbida a la superficie de las partículas del suelo. A medida que el agua es absorbida por la planta, la solución en el suelo queda restringida a pequeños huecos, canales y grietas entre las partículas del suelo. En las interfases aire-agua, esta recesión hace que la superficie de la solución en el suelo desarrolle meniscos cóncavos (las interfases curvadas entre el aire y el agua están señaladas en la figura con flechas), que generan la tensión (o presión negativa) de la solución por tensión superficial. A medida que se elimina más agua del suelo, se forma el menisco más acentuado, y se crea una tensión mayor (presiones más negativas).

El agua se mueve a través del suelo por un flujo másico

El movimiento del agua a través de los suelos se produce fundamentalmente por un flujo másico impulsado por un gradiente de presión. Además, la difusión del vapor de agua también contribuye al movimiento del agua. A medida que la planta absorbe agua del suelo, la zona de la rizosfera se vacía. Este vaciado reduce el Ψ_p del agua cerca de la superficie radical y se establece un gradiente de presión con respecto a la región adyacente del suelo con valores de Ψ_p mayores. *Como los espacios porosos del suelo, que están llenos de agua, están interconectados, el agua se mueve hacia la superficie radical por un flujo másico a través de estos canales a favor de un gradiente de presión.*

La intensidad del flujo de agua por el suelo depende de dos factores: de la magnitud del gradiente de presión a través del suelo y de la conductividad hidráulica del suelo. La **conductividad hidráulica del suelo** es la medida de la facilidad con la que el agua se mueve a través del suelo y varía con el tipo de suelo y con el contenido de agua. Los suelos arenosos, con sus grandes espacios entre partículas, tienen grandes conductividades hidráulicas, mientras que los suelos arcillosos, con pequeños espacios entre partículas, tienen conductividades hidráulicas significativamente más pequeñas.

A medida que el contenido de agua del suelo (y, por tanto, su potencial hídrico) disminuye, la conductividad hidráulica disminuye drásticamente (véase el **tema web 4.2**). Esta disminución en la conductividad hidráulica es debida a la sustitución del agua que había en los espacios del suelo por aire. Cuando el aire entra en un canal del suelo que previamente contenía agua, el movimiento del agua a través del canal queda restringido a la periferia del mismo. A medida que los espacios del suelo se llenan de aire, el agua puede fluir a través de menos canales y cada vez más estrechos, por lo que la conductividad hidráulica disminuye.

En suelos muy secos, el potencial hídrico (Ψ_w) puede caer hasta **el punto de marchitez permanente**. En este punto el potencial hídrico del suelo es tan bajo que las plantas no pueden recuperar la presión de turgencia, incluso aunque cese la pérdida de agua por transpiración. Esto significa que el potencial hídrico del suelo (Ψ_w) es menor o igual al potencial osmótico (Ψ_s) de la planta. Dado que el Ψ_s celular varía con la especie vegetal, es evidente que el punto de marchitez permanente no es una propiedad exclusiva del suelo; también depende de la especie vegetal en cuestión.

ABSORCIÓN DE AGUA POR LAS RAÍCES

La existencia de un contacto directo entre la superficie de la raíz y el suelo es esencial para que la absorción de agua por la raíz sea efectiva. Este contacto proporciona el área superficial necesaria para la absorción de agua y es optimizado por el crecimiento de las raíces y de los pelos radicales en el suelo. Los **pelos radicales** son las extensiones microscópicas de las células epidérmicas de la raíz que aumentan mucho el área superficial radical, proporcionando así una mayor capacidad para la absorción de iones y agua del suelo. Cuando se examinaron plantas de centeno (*Secale*) de cuatro meses de edad se encontró que los pelos radicales formaban más del 60 % del área superficial de las raíces (Figura 5.6).

El agua entra mayoritariamente por la parte apical de la raíz que incluye la región de los pelos radicales. Las regiones más maduras de la raíz tienen con frecuencia una capa externa de tejido protector, denominada *exodermis* o *hipodermis*, que contiene materiales hidrofóbicos en sus paredes y que es relativamente impermeable al agua.

El contacto directo entre el suelo y la superficie radical puede romperse fácilmente cuando se altera el suelo. Esta es la razón por la que plántulas y plantas recién transplantadas necesitan ser protegidas de las pérdidas de agua durante los primeros días después de su transplante. Más adelante, el nuevo crecimiento radical en el suelo restablece el contacto suelo-raíz y la planta puede soportar mejor un déficit hídrico.

Analicemos cómo se mueve el agua por la raíz y los factores que determinan la magnitud de la absorción de agua a la misma.

El agua se mueve por la raíz por las rutas del apoplasto, transmembrana y simplasto

En el suelo el agua es transportada principalmente por flujo másico. Sin embargo, cuando el agua entra en contacto con las superficies radicales, la naturaleza del transporte se hace más compleja. Desde la epidermis hasta la endodermis de la raíz, existen tres rutas a través de las que el agua puede fluir (Figura 4.3): apoplasto, transmembrana y simplasto.

1. En la ruta del apoplasto, el agua se mueve exclusivamente a través de la pared celular sin atravesar ninguna membrana. El apoplasto es el sistema continuo de paredes celulares y de espacios aéreos intercelulares en los tejidos vegetales.
2. La ruta transmembrana es la ruta seguida por el agua que entra en una célula por un lado, sale por el otro, entra en la célula siguiente por un lado y sale por el otro, y así sucesivamente. En esta ruta el agua atraviesa al menos dos membranas por cada célula en su camino (la membrana plasmática de entrada y de salida). También puede estar implicado el transporte a través del tonoplasto.
3. En la ruta del simplasto, el agua viaja de célula a célula a través de plasmodesmos (véase el capítulo 1). El simplasto está formado por una red continua de citoplasmas celulares interconectados por plasmodesmos.

Aunque la importancia relativa de las tres rutas no está todavía bien establecida, experimentos mediante técnicas como la sonda de presión (véase el **tema web 3.6**) indican que la ruta del apoplasto es particularmente importante en la absorción de agua por parte de las raíces jóvenes de maíz (Frensch y col. 1996; Steudle y Frensch 1996).

En la endodermis, el movimiento del agua a través de la ruta del apoplasto está bloqueado por la banda de Caspary (véase la figura 4.3). La **banda de Caspary** es una franja en las paredes radiales de las células de la endodermis impregnada con **suberina**, sustancia hidrofóbica similar a la cera. La suberina actúa como una barrera que impide el movimiento del agua y de los solutos. La endodermis se suberiza en las partes de la raíz que no están en crecimiento, algunos milímetros por detrás del ápice radical, al mismo tiempo que maduran los primeros elementos del protoxilema (Esau 1953). La banda de Caspary rompe la continuidad de la ruta del apoplasto y fuerza al agua y a los solutos a cruzar la endodermis a través de la membrana plasmática. Así, a pesar de la importancia de la ruta del apoplasto en el córtex y en el cilindro vascular de la raíz, el movimiento de agua a través de la endodermis se produce por el simplasto.

Otra forma de comprender el movimiento del agua a través de la raíz es considerarla como una ruta única que tiene una única conductancia hidráulica. Esta aproximación ha llevado al desarrollo del concepto de **conductancia hidráulica radical** (para más detalles, véase el **tema web 4.3**).

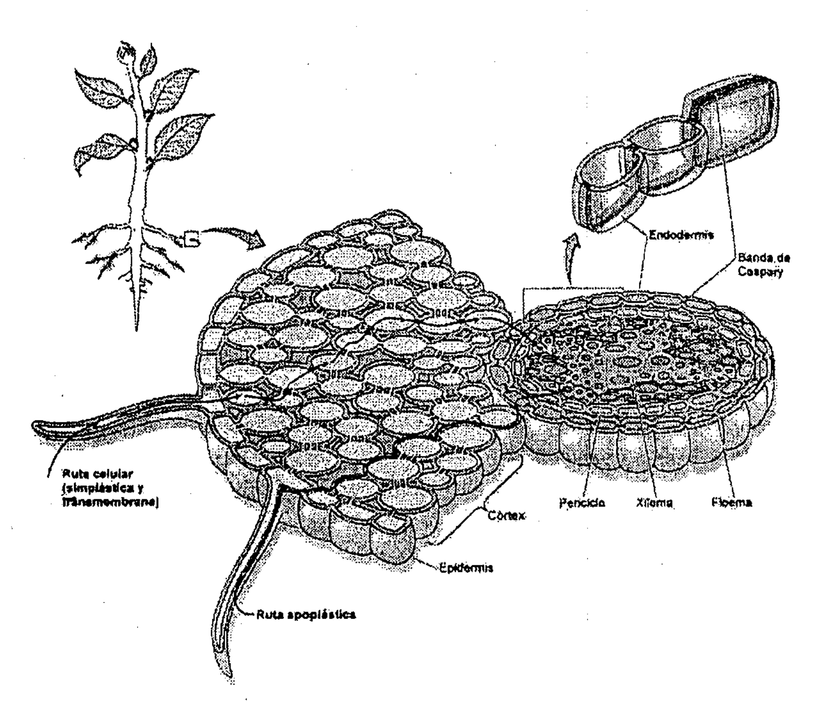


Figura 4.3 Rutas de incorporación de agua por la raíz. A través del córtex, el agua puede moverse por la ruta apoplástica, la ruta transmembrana y la ruta simplástica. En la ruta simplástica, el agua fluye por las células a través de los plasmodesmos sin atravesar la membrana plasmática. En la ruta transmembrana, el agua se mueve a través de las membranas plasmáticas, con breves incursiones en el espacio de la pared celular. En la endodermis, la ruta apoplástica está bloqueada por la banda de Caspary.

La región apical de las raíces es la más permeable al agua. Por encima de este punto, la suberificación de la exodermis limita la absorción de agua (Figura 4.4). Sin embargo, parte de la absorción de agua puede tener lugar a través de las raíces más viejas, posiblemente a través de roturas en la corteza asociadas con el crecimiento de las raíces secundarias hacia el exterior.

La absorción de agua disminuye cuando las raíces están sometidas a bajas temperaturas o a condiciones anaeróbicas, o son tratadas con inhibidores de la respiración (como el cianuro). Estos tratamientos inhiben la respiración radical y las raíces transportan menos agua. La explicación exacta de este efecto no está clara. Por otro lado, el descenso en el transporte de agua en la raíz proporciona una explicación de la marchitez de las plantas en suelos inundados: las raíces sumergidas consumen rápidamente el oxígeno, que ya no llega por difusión a través de los espacios aéreos del suelo (la difusión a través de una fase gaseosa es 10^4 veces más rápida que la difu-

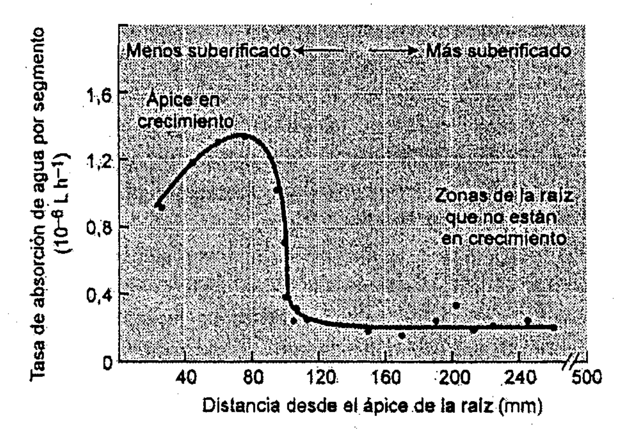


Figura 4.4 Tasa de absorción de agua en varias zonas a lo largo de una raíz de calabaza. (Según Kramer y Boyer 1995).

sión a través de agua). Las raíces en anaerobiosis transportan menos agua a la parte aérea y, por ello, sufren una pérdida neta de agua y comienzan a marchitarse.

La acumulación de soluto en el xilema puede generar una «presión radical»

En ocasiones las plantas manifiestan un fenómeno conocido como **presión radical**. Por ejemplo, si el tallo de una plántula joven se corta por su base, justo por encima de la línea del suelo, ésta exudará fluido desde el xilema de la raíz durante horas. Si se acopla un manómetro en el extremo cortado se pueden medir presiones positivas. Estas presiones pueden llegar a valores de entre 0,05 y 0,5 MPa.

Las raíces generan una presión hidrostática positiva al absorber iones desde la solución diluida del suelo y transportarlos al xilema. La acumulación de estos solutos en el xilema provoca un descenso en su potencial osmótico (Ψ_s) y por lo tanto una disminución en su potencial hídrico (Ψ_w). Este descenso del Ψ_w en el xilema proporciona una fuerza que impulsa la absorción de agua, generando una presión hidrostática positiva en el xilema. De hecho, la raíz en su conjunto actúa osmóticamente como una célula; los tejidos de la raíz se comportan como una membrana osmótica, al crear una presión hidrostática positiva en el xilema en respuesta a la acumulación de solutos.

La presión radical se produce con mayor probabilidad cuando los potenciales hídricos del suelo son grandes y las intensidades de transpiración son bajas. Cuando los niveles de transpiración son altos, el agua se absorbe tan rápidamente hasta las hojas y se cede a la atmósfera tan deprisa, que nunca se desarrolla una presión positiva en el xilema.



Figura 4.5 Gutación en hojas de fresa (*Fragaria grandiflora*). Por la mañana temprano, las hojas segregan gotas de agua a través de los hidátodos, localizados en los márgenes de las hojas. Las flores jóvenes también pueden mostrar gutación. (Fotografía gentileza de R. Aloni).

Las plantas que generan presión radical suelen presentar gotitas de líquido en los bordes de las hojas, un fenómeno conocido como **gutación** (Figura 4.5). La presión positiva del xilema provoca la exudación del líquido xilemático a través de poros especializados llamados *hidátodos*, estructuras que están asociadas a los extremos de los nervios en el margen de la hoja. Las gotas de rocío que se pueden ver en las puntas de las hojas de césped por la mañana son gotitas de gutación exudadas desde estos poros especializados. La gutación es más evidente cuando cesa la transpiración y la humedad relativa es alta, tal y como ocurre por la noche.

TRANSPORTE DE AGUA A TRAVÉS DEL XILEMA

En la mayoría de las plantas, el xilema constituye la parte más larga de la ruta del transporte de agua. En una planta de 1 m de altura, más del 99,5 % de la ruta de

transporte de agua tiene lugar a través del xilema y en los árboles altos el xilema representa una fracción incluso mayor. Comparada con la compleja ruta a través de los tejidos radicales, la del xilema es una ruta sencilla de baja resistencia. En las siguientes secciones examinaremos cómo el movimiento del agua a través del xilema se ha optimizado para llevar el agua desde las raíces a las hojas y cómo la presión hidrostática negativa generada por la transpiración de las hojas succiona el agua a través del xilema.

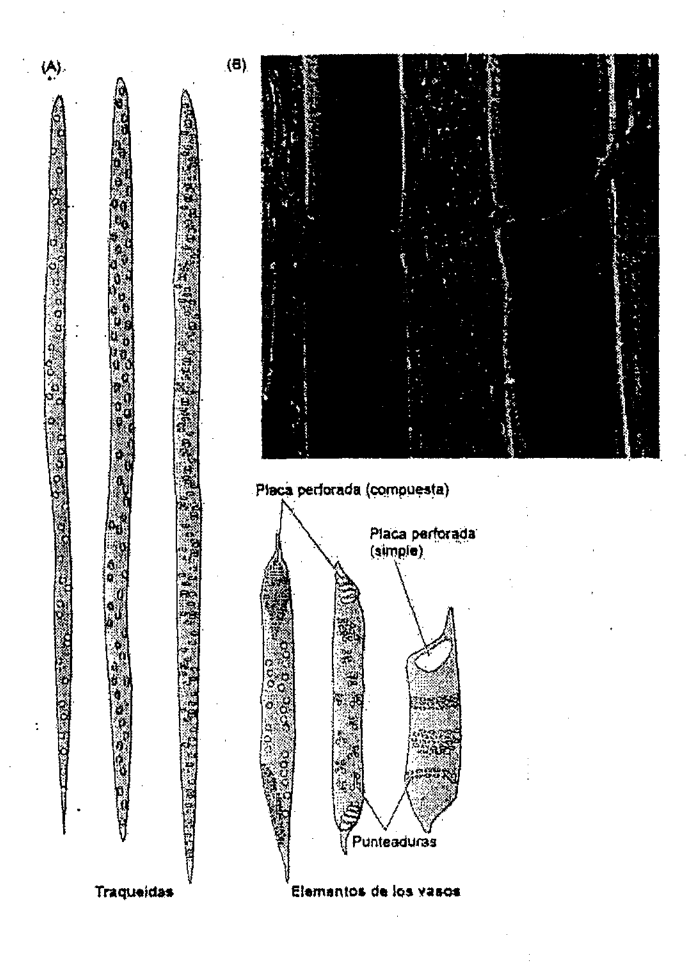
El xilema consta de dos tipos de elementos traqueales

Las células conductoras en el xilema tienen una anatomía especializada que les permite transportar grandes cantidades de agua con gran eficiencia. Hay dos tipos principales de **elementos traqueales** en el xilema: las traqueidas y los elementos de los vasos (Figura 4.6). Los elementos de los vasos están presentes sólo en las angiospermas, en un pequeño grupo de gimnospermas llamadas Gnetales y posiblemente en algunos helechos. Las traqueidas están presentes tanto en angiospermas como en gimnospermas, así como en helechos y otras plantas vasculares.

La maduración de traqueidas y elementos de los vasos implica la «muerte» de la célula, de forma que las células conductoras de agua funcionales no tienen ni membranas ni orgánulos. Lo que queda son paredes celulares gruesas, lignificadas, que forman tubos huecos a través de los cuales el agua puede fluir con relativamente poca resistencia.

Las **traqueidas** son células largas con forma de huso (Figura 4.6A) que se disponen solapadas en filas verticales. El agua fluye entre las traqueidas a través de numerosas **punteaduras** en las paredes laterales (Figura 4.6B). Estas punteaduras son regiones microscópicas que carecen de pared secundaria, y cuya pared primaria es fina y porosa (Figura 4.6C). Las punteaduras de una traqueida suelen localizarse enfrentadas a las punteaduras de la traqueida adyacente, formando **pares de punteaduras**. Estos pares de punteaduras constituyen un camino de baja resistencia para el movimiento de agua entre traqueidas. La capa porosa situada entre pares de punteaduras, formada por dos paredes primarias con una lámina media, se conoce como **membrana de punteadura**.

Las membranas de las punteaduras en las traqueidas de algunas especies de coníferas tienen un engrosamiento central llamado **toro** (Figura 4.6C). El toro actúa como una válvula, obturando la punteadura cuando se apoya sobre las paredes engrosadas circulares u ovales de estas punteaduras. Este mecanismo de obturación es efectivo para prevenir que las peligrosas burbujas de gas puedan pasar desde unas traqueidas a las vecinas (analizaremos en breve esta formación de burbujas, un proceso llamado cavitación).



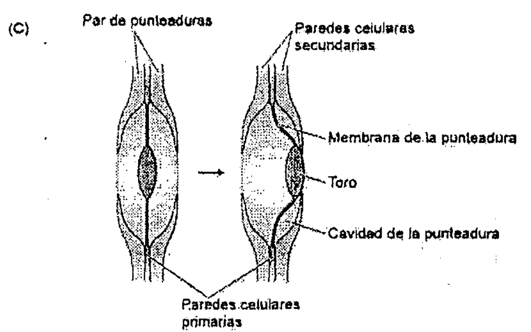


Figura 4.6 Elementos traqueales y sus interconexiones. (A) Comparación estructural de traqueidas y elementos de los vasos, dos clases de elementos traqueales implicados en el transporte de agua por el xilema. Las traqueidas son células largas, huecas y muertas con paredes altamente lignificadas. Las paredes contienen numerosas punteaduras (regiones donde no hay pared secundaria, aunque sí pared primaria). La forma y patrón de las punteaduras de la pared varía mucho entre especies y tipos de órgano. Las traqueidas están presentes en todas las plantas vasculares. Los vasos están formados por hileras de dos o más elementos del vaso. Los elementos de los vasos, al igual que las traqueidas, también son células muertas y están conectados entre sí a través de placas perforadas (regiones de la pared donde se ha formado un poro o agujero). Los vasos están conectados a otros vasos y a otras traqueidas a través de punteaduras. Los vasos se encuentran en la mayoría de las angiospermas y están ausentes en la mayoría de las gimnospermas. (B) Micrografía electrónica de barrido de madera de roble en la que se muestran dos elementos de los vasos que forman parte de un vaso. En las paredes laterales son visibles grandes punteaduras y las paredes de los extremos están abiertas en la placa perforada (420×). (C) Diagrama de una punteadura areolada con el toro bien centrado en la cavidad de la punteadura o alojado en un lado de la cavidad, bloqueando el flujo. (B © G. Shih-R. Kessel/Visuals Unlimited; C según Zimmermann 1983).

Los **elementos de los vasos** tienden a ser más cortos y anchos que las traqueidas, y tienen paredes perforadas en sus extremos que forman las llamadas **placas perforadas**. Como las traqueidas, los elementos de los vasos tienen punteaduras en las paredes laterales (Figura 4.6B). A diferencia de las traqueidas, los extremos perforados de los elementos de los vasos les permiten apilarse unos sobre otros (extremo sobre extremo) en hileras formando una unidad más larga denominada **vaso** (de nuevo, véase la figura 4.6B). Los vasos varían en longitud, tanto dentro de una misma especie como entre especies diferentes. La longitud máxima de los vasos oscila entre 10 cm y muchos metros. Debido a sus paredes perforadas terminales, los vasos proporcionan una ruta muy eficiente y de baja resistencia al movimiento del agua. Los elementos de los vasos que ocupan el extremo de un vaso no tienen la pared terminal perforada y se comunican con los vasos vecinos por medio de pares de punteaduras.

El movimiento del agua a través del xilema requiere menos presión que el movimiento del agua a través de células vivas

El xilema proporciona una ruta de baja resistencia frente al movimiento del agua, reduciendo así los gradientes de presión necesarios para el transporte del agua desde el suelo a las hojas. Algunos datos numéricos nos ayudarán a apreciar la extraordinaria eficiencia del xilema. Vamos a calcular la fuerza motora necesaria para mover el agua a través del xilema a velocidad normal y la compararemos con la fuerza necesaria para moverla por la vía célula a célula.

Para esta comparación, consideraremos una velocidad de 4 mm s^{-1} como velocidad de transporte por el xilema, y un vaso de 40 mm de radio. Esta velocidad es bas-

tante alta para un vaso tan estrecho, y por lo tanto tenderá a exagerar el gradiente de presiones necesario para impulsar este flujo de agua en el xilema. Utilizando la ecuación de Poiseuille (véase la ecuación 3.2), podemos calcular el gradiente de presión necesario para mover el agua a la velocidad de 4 mm s^{-1} a través de un tubo *ideal* de 40 μm de radio interno uniforme. Los cálculos nos dan un valor de 0,02 MPa m^{-1}. La elaboración de las suposiciones, ecuaciones y cálculos se encuentra en el **tema web 4.4**.

Por supuesto, la superficie interna de los conductos *reales* del xilema es irregular y las placas perforadas y las punteaduras añaden una resistencia adicional al flujo de agua. Tales desviaciones del modelo de tubo ideal aumentarán la resistencia de fricción respecto a la calculada a partir de la ecuación de Poiseuille. Sin embargo, las medidas muestran que la resistencia real es mayor en aproximadamente un factor de 2 (Nobel 1999). Así, nuestro valor estimado de 0,02 MPa m^{-1} está dentro del rango correcto para gradientes de presiones encontrados en árboles.

Comparemos este valor (0,02 MPa m^{-1}) con la fuerza necesaria para mover el agua con la misma velocidad de célula a célula, cruzando la membrana plasmática cada vez. Mediante la ecuación de Poiseulle, como se describe en el **tema web 4.4**, calculamos que la fuerza impulsora necesaria para mover el agua a través de una capa de células a una velocidad de 4 mm s^{-1} es de 2×10^8 MPa m^{-1}. Esta fuerza es 10 órdenes de magnitud superior a la de la fuerza impulsora necesaria para mover el agua a través de un vaso del xilema de 40 μm radio. Así pues, nuestros cálculos muestran claramente que el movimiento del agua a través del xilema es muchísimo más eficiente que el movimiento de agua a través de las membranas de células vivas.

¿Qué diferencia de presión se necesita para subir el agua a la copa de un árbol de 100 metros de altura?

Con el ejemplo anterior en mente, vamos a comprobar el gradiente de presión necesario para mover el agua hasta la copa de un árbol de gran tamaño. Las secuoyas de Norteamérica (*Sequoia sempervirens*) y el *Eucaliptus regnans* de Australia son los árboles más altos del mundo. Algunos individuos de estas especies superan los 100 metros de altura. Si imaginamos el tallo de un árbol como una gran tubería, podemos estimar la diferencia de presión necesaria para superar la resistencia de fricción del agua moviéndose desde el suelo a la copa del árbol, multiplicando nuestro gradiente de presión de 0,02 MPa m^{-1} por la altura del árbol (0,02 MPa $m^{-1} \times 100$ m = 2 MPa).

Además de la resistencia por fricción, hemos de considerar la gravedad. El peso de una columna vertical de agua de 100 metros de altura genera una presión en su base de 1 MPa (100 m × 0,01 MPa m^{-1}). Este gradiente de presión debido a la gravedad se debe añadir al necesario para mover el agua a través del xilema. Por lo tanto, para llevar el agua desde la base a las ramas de la copa en los árboles más altos sería necesaria una diferencia de presión de 3 MPa.

La teoría de la tensión-cohesión explica el transporte de agua en el xilema

En teoría, los gradientes de presión necesarios para el movimiento del agua a través del xilema podrían generarse por presiones positivas desde la base de la planta o por presiones negativas desde la parte superior de la planta. Antes hemos mencionado que algunas raíces desarrollan una presión hidrostática positiva en su xilema, también llamada presión radical. Sin embargo, la presión radical suele ser menor de 0,1 MPa y desaparece cuando la transpiración es alta y, por tanto, no es la responsable del movimiento de ascenso del agua en árboles altos.

Por otro lado, el agua desarrolla una gran tensión (presión hidrostática negativa) en la parte superior del árbol y esta tensión *succiona* el agua a través del xilema. Este mecanismo, propuesto a finales del siglo XIX, se denomina **teoría de la tensión-cohesión del ascenso de la savia** debido a que necesita de las propiedades cohesivas del agua para mantener las grandes tensiones que se generan en las columnas de agua del xilema (para más detalles sobre la historia de la investigación del movimiento del agua, véase el **ensayo web 4.1**).

A pesar de su atractivo, la teoría de la tensión-cohesión ha sido controvertida durante más de un siglo y continua generando intensos debates. La principal controversia se refiere a la cuestión de si las columnas de agua en el xilema pueden soportar las grandes tensiones (presiones negativas) necesarias para empujar el agua hasta lo alto de un árbol.

El debate más reciente se inició cuando los investigadores modificaron la técnica de la sonda de presión celular que permite medir directamente la tensión en los vasos del xilema (Balling y Zimmermann 1990). Antes de esta adaptación, las estimaciones de las presiones del xilema estaban basadas en las medidas de la cámara de presión en hojas (para una descripción del método de la cámara de presión, véase el **tema web 3.6**).

Inicialmente, las mediciones con la técnica de la sonda de presión no detectaron en el xilema las grandes presiones negativas esperadas, probablemente debido a la cavitación producida por pequeñas burbujas de gas introducidas cuando se pinchaban las paredes del xilema con el capilar de vidrio de la sonda de presión (Tyree 1997). Sin embargo, el refinamiento de la técnica demostró la concordancia entre las medidas de la sonda de presión y las tensiones estimadas por la cámara de presión (Melcher y col. 1998; Wei y col. 1999). Además, estudios independientes demostraron que el agua en el xilema puede soportar grandes tensiones negativas (Pockman y col. 1995)

y que las medidas de hojas no transpirantes obtenidas con la cámara de presión reflejan las tensiones del xilema (Holbrook y col. 1995).

La mayoría de los investigadores han concluido que la base de la teoría de la tensión-cohesión es correcta (Steudle 2001) (para conocer otras hipótesis alternativas se puede consultar Canny (1998) y los **ensayos Web 4.1** y **4.2**). Las tensiones en el xilema se pueden demostrar inyectando gotas de tinta en el xilema a través de la superficie de un tallo de una planta transpirante. Cuando se genera la tensión en el xilema, la tinta es succionada instantáneamente hacia el interior del xilema, dando lugar a vetas visibles a lo largo del tallo.

El transporte de agua por el xilema en los árboles hace frente a algunos desafíos de la física

Las grandes tensiones presentes en el xilema de los árboles (véase el **ensayo web 4.3**) y otras plantas pueden provocar algunos problemas. En primer lugar, el agua bajo tensión transmite una fuerza hacia dentro en las paredes del xilema. Si las paredes celulares fueran débiles o flexibles, podrían quedar destrozadas. Los engrosamientos secundarios de las paredes y la lignificación de las traqueidas y de los elementos de los vasos son adaptaciones que evitan esa tendencia al colapso.

Un segundo problema deriva de que el agua sometida a tales tensiones se encuentra en un *estado físicamente metaestable*. En el capítulo 3 mencionamos que la fuerza necesaria para romper la columna de agua desgasificada (agua que se ha hervido para eliminar los gases) es superior a 30 MPa. Este valor es muy superior a la tensión de 3 MPa estimada como necesaria para la ascensión del agua en los árboles más altos, por lo que el agua en el interior del xilema normalmente no alcanza tensiones que la desestabilicen.

Sin embargo, a medida que la tensión en el agua aumenta, también lo hace la tendencia a succionar aire a través de los poros microscópicos de las paredes celulares del xilema. Este fenómeno se llama *inyección de aire*. Un segundo modo por el que se pueden formar burbujas en los conductos del xilema es debido a la reducida solubilidad de los gases en el hielo (Davis y col. 1999): la congelación de los conductos del xilema puede conducir a la formación de burbujas. Una vez formada una burbuja de gas en una columna de agua bajo tensión, se expandirá porque los gases no pueden resistir las fuerzas de tensión. Este fenómeno de formación de una burbuja se conoce como **cavitación** o **embolia** y es similar al bloqueo del conducto de combustible de un automóvil por gases o a la embolia en los vasos sanguíneos. La cavitación rompe la continuidad de la columna de agua e impide el transporte de agua por el xilema (Tyree y Sperry 1989; Hacke y col. 2001).

Estas interrupciones en las columnas de agua son frecuentes en las plantas. Con el equipo apropiado, se puede «escuchar» la rotura de las columnas de agua (Jackson y col. 1999). Cuando se limita el agua a las plantas, es posible detectar un sonido seco. Se cree que estos golpecitos o chasquidos corresponden a la formación y rápida expansión de burbujas de aire en el xilema, produciendo ondas acústicas de alta frecuencia a través de la planta. Si estas interrupciones en el continuo del agua no fueran reparadas, las consecuencias para la planta serían desastrosas. El bloqueo de la vía principal del transporte de agua a las hojas, provocado por las embolias, podría provocar la deshidratación y la muerte de las hojas.

Las plantas minimizan las consecuencias de la cavitación

El impacto de la cavitación del xilema en la planta se minimiza de varias formas. Como los elementos traqueales del xilema están interconectados, una burbuja de gas podría, en principio, extenderse hasta ocupar toda la red xilemática. En la práctica, las burbujas de gas casi no se expanden ya que no pueden extenderse fácilmente a través de los pequeños poros de las membranas de las punteaduras. Como los capilares en el xilema están interconectados, una burbuja de gas no puede detener completamente el flujo de agua. El agua puede sortear un punto bloqueado, moviéndose lateralmente a través de los conductos vecinos conectados (Figura 4.7). Así, la longitud finita de las traqueidas y de los vasos del xilema, aunque aumenta la resistencia al paso del agua, también proporciona un sistema que restringe la cavitación.

Las burbujas de gas también pueden ser eliminadas del xilema. Durante la noche, cuando la transpiración disminuye, aumenta el Ψ_p del xilema, de forma que el vapor de agua y los gases tienden a disolverse de nuevo en la solución del xilema. Además, como hemos visto, algunas plantas desarrollan presiones positivas (las presiones radicales) en el xilema. Estudios recientes han demostrado que la cavitación puede ser recuperada incluso si el agua en el xilema se encuentra bajo tensión (Holbrook y col. 2001). No se conoce aún el mecanismo de recuperación, por lo que sigue siendo investigado (**ensayo web 4.4**). Finalmente, muchas plantas tienen un crecimiento secundario en el cual se forma un nuevo xilema cada año. Este xilema es funcional antes de que el xilema anterior deje de serlo debido a la oclusión por burbujas de gas o por otras sustancias secretadas por la planta.

La evaporación del agua en las hojas genera una presión negativa en el xilema

Las tensiones necesarias para succionar el agua a través del xilema son el resultado de la evaporación del agua desde las hojas. En una planta intacta, el agua es transportada a las hojas a través del xilema del haz vascular foliar (Figura 4.1), que se

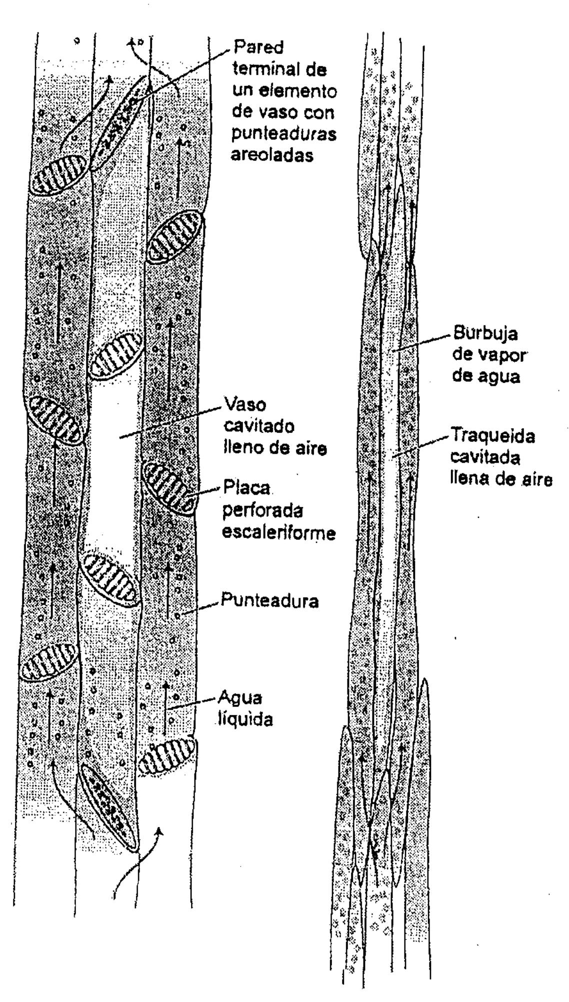


Figura 4.7 Las traqueidas (derecha) y los vasos (izquierda) forman múltiples rutas paralelas e interconectadas para el movimiento del agua. La cavitación bloquea el movimiento del agua por la formación de conductos llenos de aire (embolias). Dado que los conductos del xilema están interconectados a través de aberturas («punteaduras areoladas») en sus paredes secundarias engrosadas, el agua puede desviarse del punto bloqueado a través de los elementos traqueales adyacentes. Los pequeños poros en la membrana de las punteaduras ayudan a prevenir que las embolias se extiendan por los conductos del xilema. Así, en el diagrama de la derecha, el aire se encuentra restringido en una única traqueida cavitada. En el diagrama de la izquierda, el aire llena por completo el vaso cavitado, que está compuesto por tres elementos de vasos, separados entre sí por placas perforadas escaleriformes. En la naturaleza, los vasos pueden ser muy largos (hasta varios metros de longitud) y estar formados por muchos elementos de vasos.

ramifica en una fina red de **nervios** a través de la hoja (Figura 4.8). Este **patrón de nerviación** llega a estar tan ramificado que la mayoría de las células en una hoja típica suelen estar a menos de 0,5 mm de un nervio menor. Desde el xilema, el agua es dirigida a las células de la hoja y a las paredes celulares.

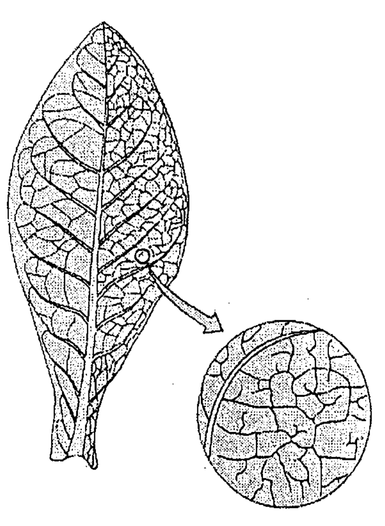


Figura 4.8 Nerviación de una hoja de tabaco, mostrando ramificaciones del nervio central en venas laterales más finas. Este patrón de nerviación lleva el agua del xilema cerca de cada una de las células de la hoja. (Según Kramer y Boyer 1995).

En la superficie de las paredes celulares de la hoja se desarrolla la presión negativa que provoca el ascenso del agua por el xilema. La situación es análoga a la del suelo. La pared celular actúa como un fino capilar lleno de agua. El agua se adhiere a las microfibrillas de celulosa y a otros componentes hidrofílicos de la pared. Las células del mesofilo de las hojas están en contacto directo con la atmósfera a través de un extenso sistema de espacios aéreos intercelulares.

Inicialmente, el agua se evapora desde una fina capa que cubre estos espacios aéreos. A medida que el agua es liberada al aire, el frente del agua remanente es conducido a los intersticios de la pared celular (Figura 4.9), donde forma interfases aire-agua curvadas. Debido a la alta tensión superficial del agua, la curvatura de estas interfases induce una tensión, o presión negativa, en el agua. A medida que se elimina más agua de la pared, el radio de curvatura de las interfases aire-agua disminuye y la presión del agua se hace más negativa (véase la ecuación 4.1). Por tanto, la fuerza impulsora para el transporte por el xilema es generada en las interfases aire-agua dentro de la hoja.

EL MOVIMIENTO DEL AGUA DESDE LA HOJA A LA ATMÓSFERA

Una vez que el agua se ha evaporado desde la superficie celular al espacio aéreo intercelular, el siguiente movimiento del agua hacia el exterior de la hoja se produce principalmente por difusión. La cutícula cérea que recubre la superficie de la hoja es una barrera muy efectiva frente al movimiento del agua. Se calcula que sólo un 5 % del agua liberada por las hojas se escapa a través de la cutícula. Casi toda el agua liberada por la hoja lo es como vapor a través de los pequeños poros del aparato estomático, normalmente más abundantes en la cara inferior de la hoja.

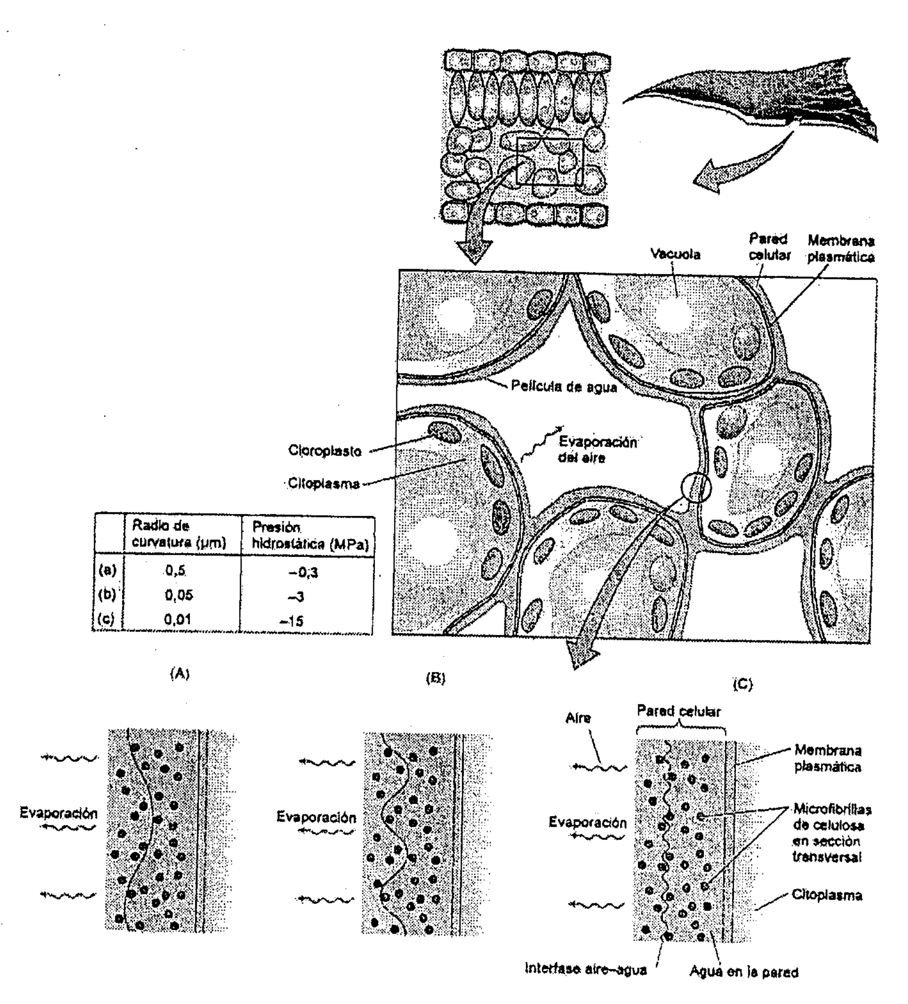


Figura 4.9 Tensiones o presiones negativas originadas en las hojas. A medida que el agua se evapora de la película superficial que recubre las paredes celulares del mesofilo, el agua queda más recluida en los intersticios de las paredes celulares y la tensión superficial da lugar a una presión negativa en la fase líquida. A medida que el radio de curvatura disminuye, la presión disminuye (se hace más negativa), tal y como se calcula mediante la ecuación 4.1.

En su camino desde la hoja hasta la atmósfera, el agua es succionada desde el xilema a las paredes celulares del mesofilo, de donde se evapora a los espacios aéreos de la hoja (Figura 4.10). Entonces el vapor de agua sale de la hoja a través del poro

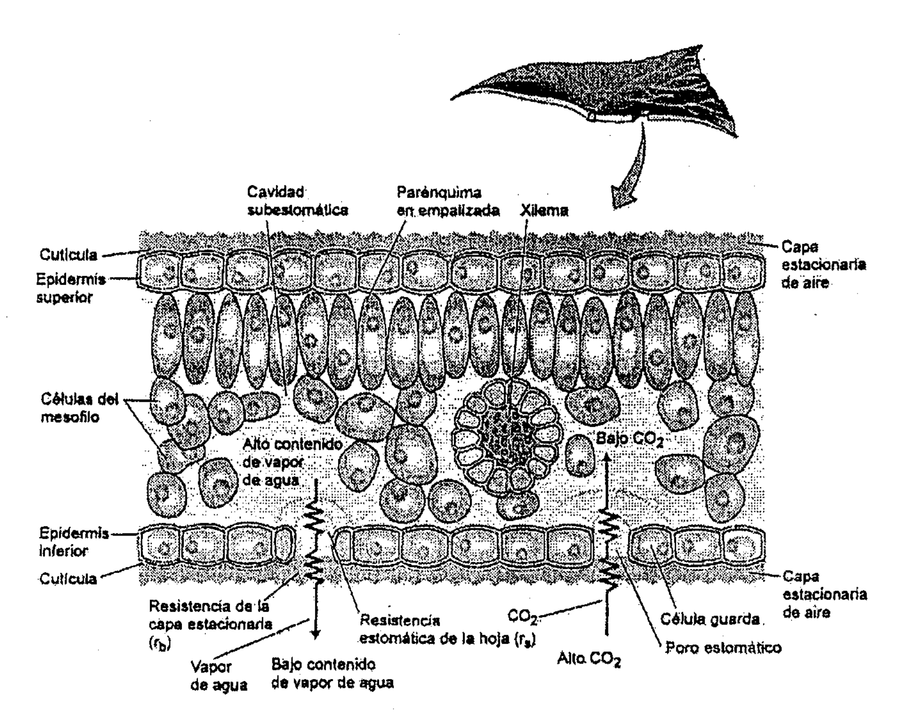


Figura 4.10 La ruta del agua a través de la hoja. El agua es succionada desde el xilema a las paredes celulares del mesofilo, donde se evapora a los espacios aéreos de la hoja. El vapor de agua difunde a través de los espacios aéreos de la hoja, atraviesa del poro estomático y difunde a través de la capa estacionaria de aire de la superficie externa de la hoja. El CO_2 difunde en sentido opuesto, a favor de su gradiente de concentración (menor dentro, mayor fuera).

estomático. El agua se mueve por esta ruta sobre todo por difusión, por lo que el movimiento del agua está controlado por el *gradiente de concentración* de vapor de agua.

Examinaremos a continuación la fuerza impulsora de la transpiración foliar, las principales resistencias en la ruta de difusión desde la hoja a la atmósfera y las características anatómicas que regulan la transpiración en la hoja.

El vapor de agua difunde rápidamente en el aire

En el capítulo 3 señalamos que la difusión en los líquidos es tan lenta que es sólo efectiva a dimensiones celulares. ¿Cuánto tardaría una molécula de agua en difundir desde las superficies celulares del interior de la hoja a la atmósfera exterior? En el capítulo 3 vimos que el tiempo medio necesario para que una molécula difun-

da una distancia L es igual a L^2/D_s, donde D_s es el coeficiente de difusión. La distancia que debe recorrer una molécula de agua para difundir desde el punto de evaporación dentro de la hoja hasta el aire exterior es aproximadamente de 1 mm (10^{-3} m), y el coeficiente de difusión del agua en el aire es de $2,4 \times 10^{-5}$ m^2 s^{-1}. Por tanto, el tiempo medio necesario para que una molécula de agua escape de la hoja es de aproximadamente 0,042 s. Así pues, la difusión es adecuada para explicar el movimiento del vapor de agua a través de la fase gaseosa de la hoja. La razón por la que este tiempo es inferior a los 2,5 s calculados en el capítulo 3 para que una molécula de glucosa difunda por una célula de 50 mm, es que la difusión es mucho más rápida en un gas que en un líquido.

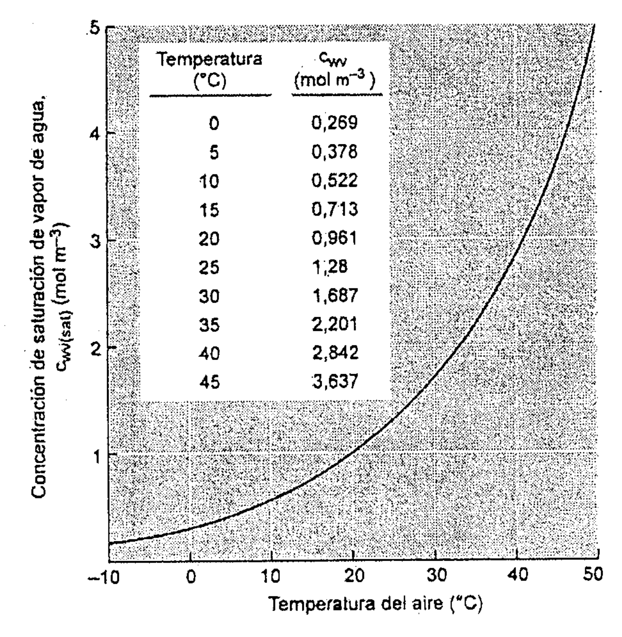
La transpiración desde la hoja depende sobre todo de dos factores: (1) la **diferencia de concentración de vapor de agua** entre los espacios aéreos de la hoja y la atmósfera exterior y (2) la **resistencia a la difusión (r)** de esta ruta. Analizaremos en primer lugar cómo las diferencias de concentración de vapor de agua controlan la velocidad de la transpiración.

La fuerza que impulsa la pérdida de agua es la diferencia de concentración de vapor de agua

La diferencia en la concentración del vapor de agua se expresa como $c_{wv(hoja)} - c_{wv(aire)}$. La concentración del vapor de agua de una masa de aire ($c_{wv(aire)}$) se puede medir fácilmente, pero el de la hoja ($c_{wv(hoja)}$) es mucho más difícil de determinar.

Mientras que el volumen del espacio aéreo intercelular dentro de la hoja es bastante pequeño, la superficie húmeda desde la cual el agua se evapora es comparativamente mayor. (El volumen del espacio aéreo es del orden del 5 % del volumen total de la hoja en acículas de pino, del 10 % en hojas de maíz, del 30 % en hojas de cebada y del 40 % en hojas de tabaco.) A diferencia del volumen de los espacios aéreos, el área de la superficie interna desde la que el agua se evapora puede ser entre 7 y 30 veces mayor que el área exterior de la hoja. Esta alta proporción de la superficie con respecto al volumen hace que el vapor alcance el equilibrio rápidamente en el interior de la hoja. Por tanto, podemos asumir que el espacio aéreo en la hoja está próximo al potencial hídrico en equilibrio con la superficie de la pared celular desde la cual se evapora el agua líquida.

Un aspecto importante de esta relación es que en el rango de los potenciales hídricos experimentados por las hojas en transpiración (generalmente mayores de 2,0 MPa) la concentración del vapor de agua en el equilibrio está próxima a la concentración de saturación del vapor de agua. Esto permite estimar la concentración del vapor de agua en una hoja a partir de su temperatura, que sí es fácil de medir. (El **tema web 4.5** muestra cómo se calcula la concentración del vapor de agua en los espacios aéreos de la hoja y se analizan otros aspectos de las relaciones hídricas en una hoja.)



Temperatura (°C)	c_{wv} (mol m^{-3})
0	0,269
5	0,378
10	0,522
15	0,713
20	0,961
25	1,28
30	1,687
35	2,201
40	2,842
45	3,637

Figura 4.11 Concentración de vapor de agua en aire saturado en función de la temperatura del aire.

La concentración del vapor de agua, c_{wv}, cambia en varios puntos a lo largo de la ruta de transpiración. En la tabla 4.2 se puede ver que c_{wv} disminuye en cada paso de la ruta desde la superficie de la pared celular hasta la masa de aire externa a la hoja. Los puntos importantes a recordar son (1) que la fuerza que impulsa la pérdida de agua desde la hoja es la diferencia de concentración *absoluta* (diferencia en c_{wv}, en mol m^{-3}), y (2) que esta diferencia depende de la temperatura foliar, como se muestra en la figura 4.11.

La pérdida de agua también está regulada por las resistencias en la ruta

El segundo factor importante que gobierna la pérdida de agua desde la hoja es la resistencia a la difusión de la ruta de la transpiración, que consta de dos componentes:

TABLA 4.2
Valores representativos de la humedad relativa, la concentración absoluta de vapor de agua y el potencial hídrico para cuatro puntos de la ruta de pérdida de agua desde una hoja

		Vapor de agua	
Localización	Humedad relativa	Concentración (mol m^{-3})	Potencial (MPa)[a]
Espacios aéreos internos (25 °C)	0,99	1,27	−1,38
Justo dentro del poro estomático (25 °C)	0,95	1,21	−7,04
Justo fuera del poro estomático (25 °C)	0,47	0,60	−103,7
Masa de aire (20 °C)	0,50	0,50	−93,6

Fuente: Adaptado de Nobel 1999.
Nota: Véase la figura 4.10.
[a] Calculado utilizando la ecuación 4.5.2 en el tema web 4.5; con valores para $RT\bar{V}_W$ de 135 MPa a 20 °C y 137,3 MPa a 25 °C.

1. La **resistencia estomática de la hoja** (r_s), que es la resistencia asociada a la difusión a través de los poros estomáticos.
2. La resistencia debida a la capa estacionaria de aire próxima a la superficie de la hoja, a través de la cual el vapor de agua debe difundir para alcanzar el aire en régimen turbulento de la atmósfera. Esta segunda resistencia, r_b, se conoce como la **resistencia de la capa estacionaria** de la hoja. Analizaremos este tipo de resistencia antes de considerar la resistencia estomática.

El grosor de la capa estacionaria está determinado principalmente por la velocidad del viento. Cuando el aire que rodea una hoja está en reposo, la capa estacionaria de aire en la superficie de la hoja puede ser tan gruesa que llegue a ser el principal factor que limita la pérdida de vapor de agua desde la hoja. En estas condiciones, un aumento en la apertura estomática tiene un efecto mínimo en la intensidad de transpiración (Figura 4.12) (aunque el cierre completo de los estomas aún reduciría la transpiración).

Cuando la velocidad del viento es alta, el aire en movimiento reduce el grosor de la capa estacionaria en la superficie de la hoja, reduciendo la resistencia de esta capa. Bajo estas condiciones es la resistencia estomática la que ejerce el principal control sobre la pérdida de agua desde la hoja.

Diversos aspectos anatómicos y morfológicos de la hoja pueden alterar el grosor de la capa estacionaria. Los pelos en la superficie de las hojas pueden servir como cortavientos microscópicos. Algunas plantas tienen estomas hundidos, proporcionando una región protegida en el exterior del poro estomático. El tamaño y forma de las hojas también influye en el modo en que el viento barre la superficie de la

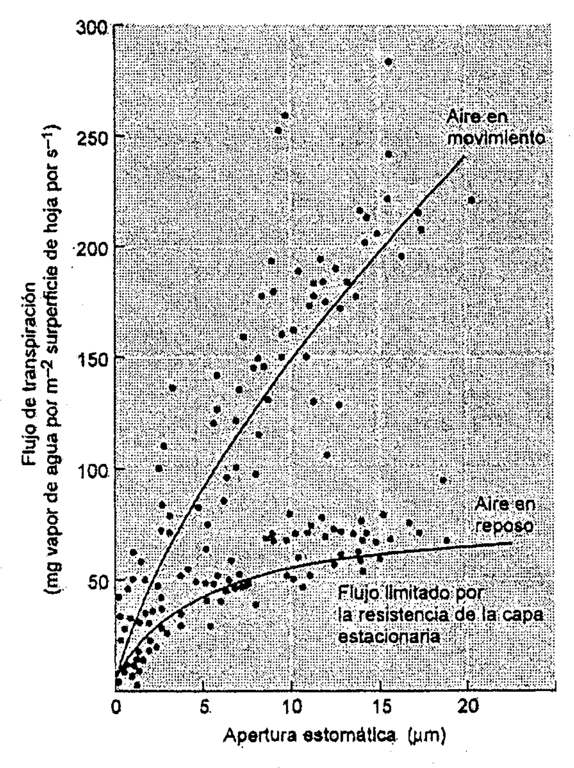


Figura 4.12 Relación entre el flujo de transpiración y la apertura estomática de cebrina (*Zebrina pendula*) en condiciones de aire en reposo y aire en movimiento. La capa estacionaria es mayor y mucho más limitante con el aire en reposo que con el aire en movimiento. Como consecuencia, la apertura estomática tiene menos control sobre la transpiración con el aire en reposo. (Según Bange 1953).

hoja. Aunque éstos y otros factores pueden influir en la capa estacionaria, no son características que puedan ser alteradas en un rango de horas o de días. Para la regulación a corto plazo, el control de la apertura estomática por las células guarda juega el papel principal en la regulación de la transpiración de la hoja.

El control estomático acopla la transpiración de la hoja a la fotosíntesis

Como la cutícula de las hojas es prácticamente impermeable al agua, la mayor parte de la transpiración de la hoja tiene lugar por difusión a través del poro estomático (véase la figura 4.10). Los poros estomáticos proporcionan una *ruta de baja resistencia* para la difusión de gases a través de la epidermis y de la cutícula. Es decir,

los poros estomáticos reducen la resistencia difusional para la pérdida de agua desde la hoja. Los cambios en la resistencia estomática son importantes en la regulación de las pérdidas de agua por la planta y en el control de la tasa de incorporación del dióxido de carbono para que su fijación se mantenga en la fotosíntesis.

Todas las plantas terrestres se enfrentan a la dualidad que representa la incorporación del CO_2 de la atmósfera y la limitación de la pérdida de agua. La cutícula que cubre la superficie de la planta expuesta a la atmósfera actúa como una barrera efectiva para evitar la pérdida de agua y así proteger a la planta de la desecación; sin embargo, las plantas no pueden evitar la difusión del agua sin impedir simultáneamente la entrada del CO_2 en la hoja. Este problema se agrava porque el gradiente de concentración para la incorporación del CO_2 es mucho menor que el gradiente de concentración que impulsa la pérdida de agua.

Cuando el agua es abundante, la solución funcional para este dilema está en la regulación *temporal* de aperturas estomáticas, abiertas durante el día y cerradas por la noche. Por la noche, cuando no hay fotosíntesis, y por lo tanto no hay demanda de CO_2 en el interior de la hoja, la apertura estomática es pequeña, evitando las pérdidas innecesarias de agua. En una mañana soleada, cuando el aporte de agua es abundante y la radiación solar incidente sobre la hoja favorece la actividad fotosintética, la demanda de CO_2 en el interior de la hoja es grande, por lo que los poros estomáticos se abren, de modo que la resistencia estomática a la difusión del CO_2 disminuye. La pérdida de agua por transpiración es importante en esas condiciones, pero como el aporte de agua es grande, para la planta resulta ventajoso compensar el agua perdida con los productos de la fotosíntesis, esenciales para el crecimiento y la reproducción.

Por otra parte, cuando el agua en el suelo es menos abundante, los estomas se abrirán menos e incluso permanecerán cerrados en una mañana soleada. Al mantener sus estomas cerrados, la planta evita la deshidratación. Los valores de $(c_{wv(hoja)} - c_{wv(aire)})$ y de r_b no son susceptibles de control biológico. Sin embargo, la resistencia estomática (r_s) puede estar regulada por la apertura y cierre de los estomas. Este control biológico es realizado por un par de células epidérmicas especializadas, las **células guarda**, que rodean a los poros estomáticos (Figura 4.13).

Las paredes celulares de las células guarda tienen características especializadas

Las células guarda están presentes en las hojas de todas las plantas vasculares, y también en órganos de plantas más primitivas, como las hepáticas y los musgos (Ziegler 1987). Las células guarda muestran una diversidad morfológica considerable, aunque podemos distinguir dos tipos principales: uno es típico de herbáceas y algunas

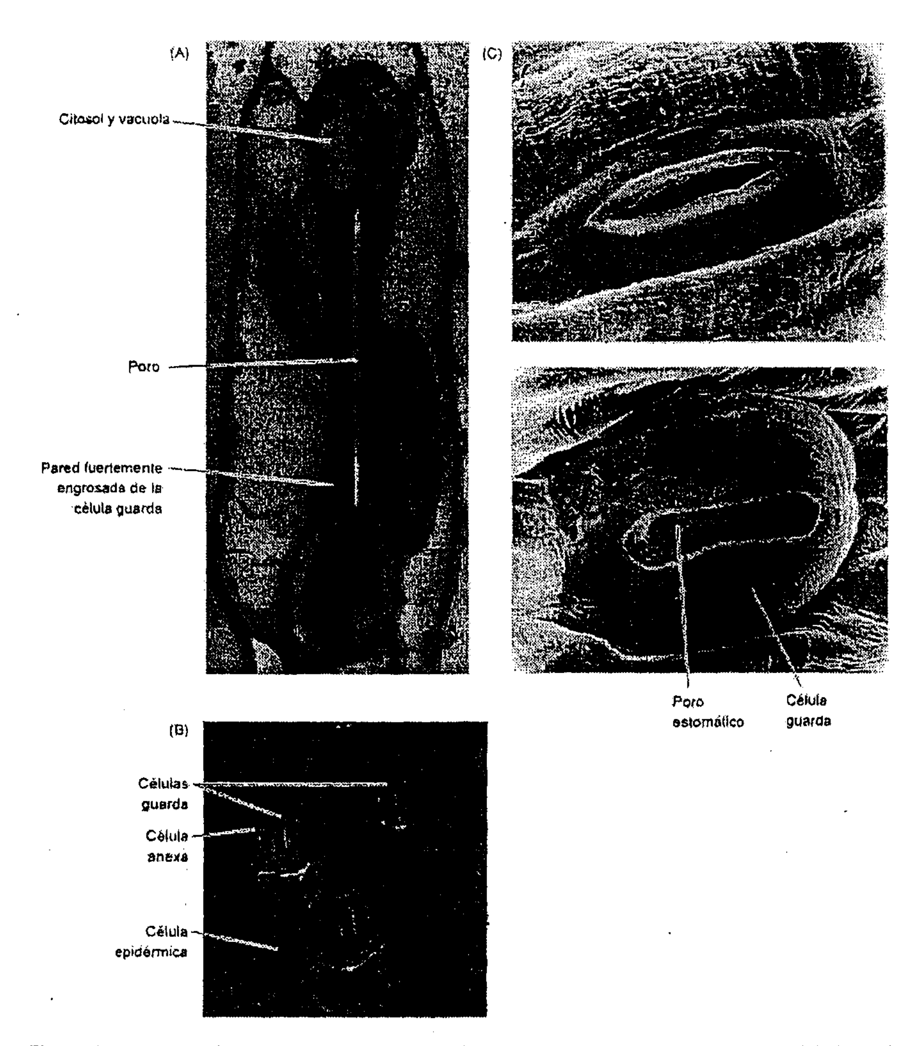


Figura 4.13 Micrografía electrónica de estomas. (A) Estomas de herbácea. Los extremos globulares de cada célula guarda muestran su contenido citosólico y están unidos por paredes altamente engrosadas. Los poros estomáticos separan las partes centrales de las células guarda (2560×). (B) Complejo estomático de juncia, *Carex*, vista por microscopía de contraste diferencial de interferencia. Cada complejo está formado por dos células guarda que rodean un poro y dos células anexas que las flanquean (550×). (C) Micrografía electrónica de barrido de la epidermis de cebolla. La parte superior muestra la superficie exterior de la hoja, con un poro estomático insertado en la cutícula. El panel inferior muestra un par de células guarda de cara a la cavidad estomática, hacia el interior de la hoja (1640×). (A de Palevitz 1981, B de Jarvis y Mansfield 1981, A y B gentileza de B. Palevitz; micrografías en C de Zeiger y Hepler 1976 [superior] y de E. Zeiger y N. Burnstein [inferior].)

otras monocotiledóneas como las palmeras; el otro está presente en todas las dicotiledóneas, en muchas monocotiledóneas, en musgos, en helechos y en gimnospermas.

En las herbáceas (Figura 4.13A), las células guarda tienen una forma característica de barra de pesas, con los extremos globulares. El poro está formado por una larga hendidura situada entre las dos «asas» de las pesas. Estas células guarda están siempre rodeadas por un par de células epidérmicas diferenciadas, las **células anexas,** que ayudan a las células guarda a controlar la apertura de los estomas (véase la figura 4.13B). El poro, las células guarda y las células anexas forman el **complejo estomático**.

En plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas no herbáceas, las células guarda tienen forma arriñonada con un contorno elíptico con el poro en su centro (Figura 4.13C). Aunque en algunos casos se pueden encontrar células anexas, en las especies con los estomas en forma arriñonada normalmente las células guarda están rodeadas por células epidérmicas ordinarias.

Una característica distintiva de las células guarda es la estructura especializada de sus paredes. Algunas zonas de estas paredes están fuertemente engrosadas (Figura 4.14) y pueden tener un espesor de hasta 5 μm, en contraste con los 1-2 μm típicos de las células epidérmicas. Las células guarda arriñonadas tienen un patrón típico, con las paredes interna y externa (laterales) muy gruesas, la pared dorsal (la pared en contacto con las células epidérmicas) delgada, y la pared ventral (junto al poro) algo engrosada (Figura 4.14). La parte de las paredes que están de cara a la atmósfera se prolongan formando unos salientes bien desarrollados que forman el poro propiamente dicho.

El alineamiento de las **microfibrillas de celulosa,** que refuerzan las paredes celulares vegetales y determinan la forma de la célula (véase el capítulo 15), juega un papel esencial en la apertura y cierre de los poros estomáticos. En células comunes de forma cilíndrica, las microfibrillas de celulosa están orientadas transversalmente al eje mayor de la célula. En consecuencia, la célula se expande en la dirección del eje mayor, ya que la resistencia de los refuerzos de celulosa es mínima en ángulo recto.

En las células guarda la organización de las microfibrillas es diferente. Las células guarda con forma de riñón tienen microflbrillas de celulosa desplegándose radialmente desde el poro (Figura 4.15A). Así, la circunferencia de la célula está reforzada como si fuera un neumático con cintas de acero radiales, por lo que la célula guarda se curva hacia fuera durante la apertura estomática (Sharpe y col. 1987). Por otra parte, en las herbáceas, las células guarda con forma de pesa funcionan como vigas con extremos inflables. A medida que los extremos redondeados de las células aumentan en volumen y se hinchan, las vigas se separan una de la otra y la hendidura entre ellas se ensancha (Figura 4.15B).

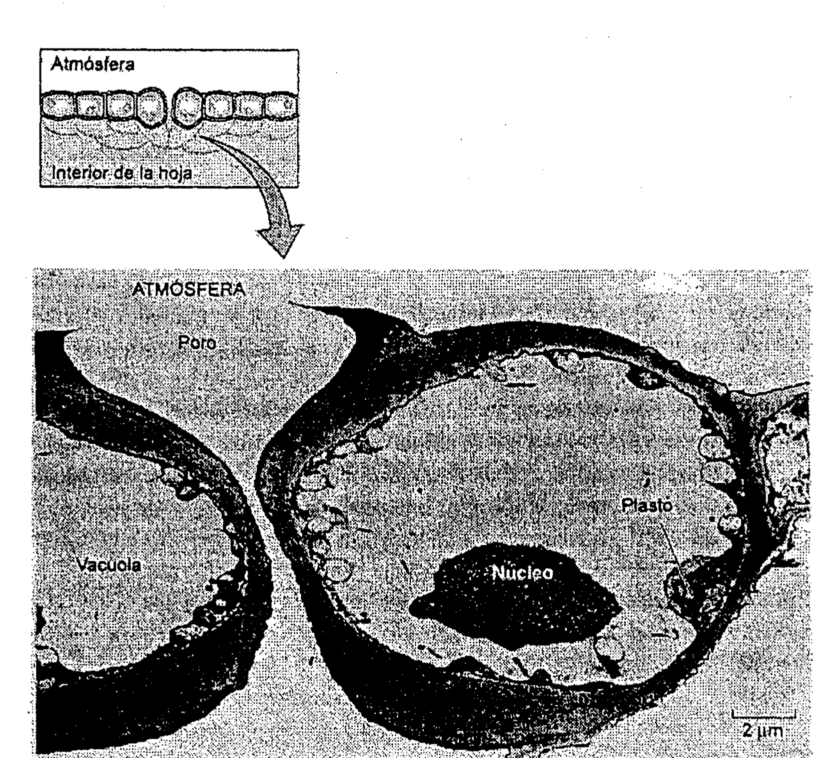


Figura 4.14 Micrografía electrónica que muestra un par de células guarda de la dicotiledónea *Nicotiana tabacum* (tabaco). La sección es perpendicular a la superficie principal de la hoja. El poro está orientado a la atmósfera; la parte inferior está de cara a la cavidad subestomática en el interior de la hoja. Obsérvese el patrón desigual en los engrosamientos de las paredes, que determina la deformación asimétrica de las células guarda cuando su volumen aumenta durante la apertura estomática. (Según Sack 1987, gentileza de F. Sack).

Un aumento en la presión de turgencia en las células guarda provoca la apertura estomática

Las células guarda funcionan como válvulas hidráulicas multisensoriales. Factores ambientales tales como la intensidad y el tipo de luz, la temperatura, la humedad relativa y la concentración intracelular de CO_2 son detectados por las células guarda e integrados en respuestas estomáticas bien definidas. Si se iluminan de repente hojas mantenidas en oscuridad, el estímulo de luz es percibido por las células guarda como una señal de apertura, por lo que dichas células llevarán a cabo las acciones que provocan la apertura del poro estomático.

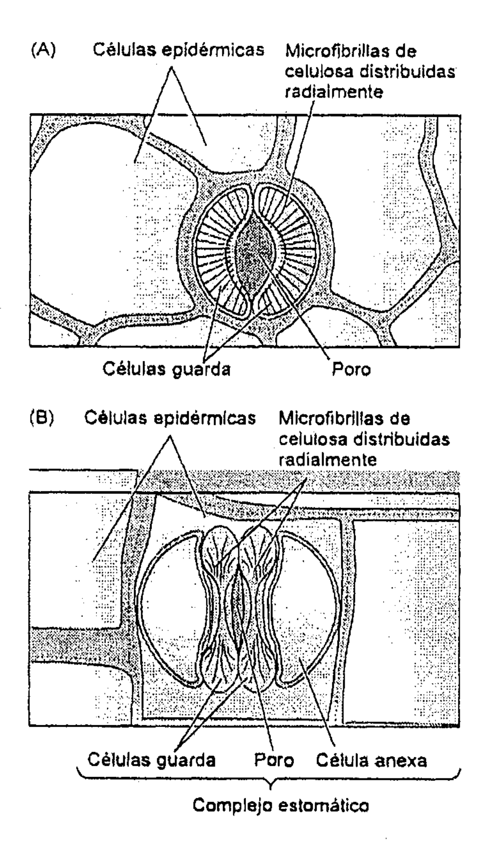


Figura 4.15 Alineamiento radial de las microfibrillas de celulosa en células guarda y en células epidérmicas de un estoma: en forma arriñonada (A) y tipo herbácea (B). (Según Meidner y Mansfield 1968).

Los primeros aspectos de este proceso incluyen la entrada de iones y otros cambios metabólicos en las células guarda y serán analizados con detalle en el capítulo 18. Aquí destacaremos el efecto de la disminución del potencial osmótico (Ψ_s) debido a la incorporación de iones y a la biosíntesis de moléculas orgánicas en las células guarda. Las relaciones hídricas en estas células siguen las mismas reglas que en otras células. A medida que el Ψ_s desciende, el potencial hídrico disminuye y el agua entra en las células guarda, y a medida que el agua entra en la célula guarda, la presión de turgencia aumenta. Gracias a las propiedades elásticas de sus paredes, las células guarda pueden aumentar reversiblemente su volumen desde un 40 a un 100%, dependiendo de las especies. Debido al engrosamiento diferencial de las paredes de las células guarda, estos cambios en el volumen celular conducen a la apertura y cierre de los poros estomáticos.

La tasa de transpiración permite medir la relación entre la pérdida de agua y la ganancia de carbono

La efectividad de las plantas para moderar la pérdida de agua mientras se incorpora suficiente CO_2 para que la fotosíntesis pueda realizarse es valorada por un parámetro llamado **tasa de transpiración.** Este valor se define como la cantidad de agua transpirada por la planta dividida por la cantidad de dióxido de carbono asimilado por fotosíntesis.

En plantas típicas, en las que el primer producto de la fijación del CO_2 es un compuesto de tres carbonos (estas plantas se denominan plantas C_3; véase el capítulo 8), se pierden unas 500 moléculas de agua por molécula de CO_2 fijada por fotosíntesis, por lo que la tasa de transpiración es de 500. (En ocasiones se cita el inverso de la relación transpiracional, llamado *eficiencia en el uso del agua;* plantas con una relación transpiracional de 500 tienen una eficiencia en el uso del agua de 1/500, ó 0,002.)

Esta tasa tan elevada entre la salida de agua y la entrada de CO_2 depende de tres factores:

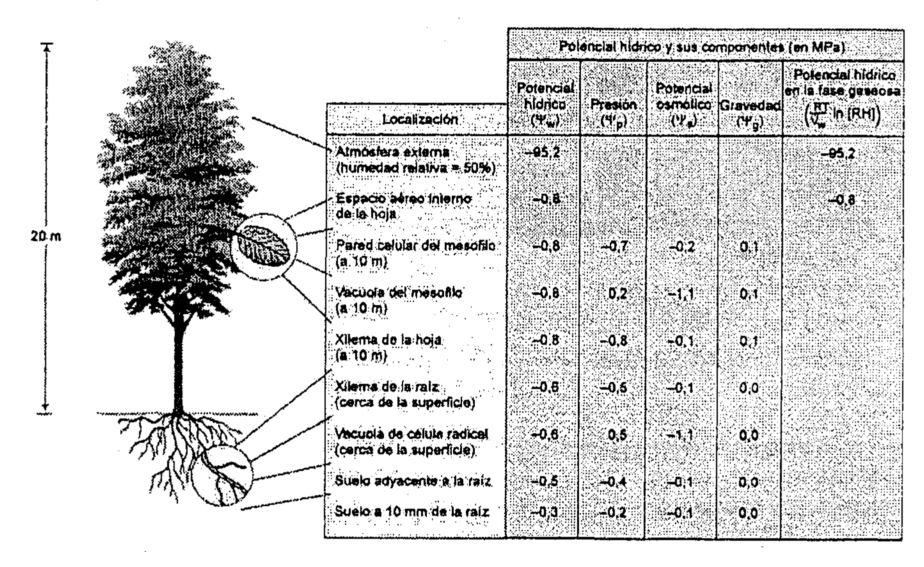
1. El gradiente de concentración que impulsa la pérdida de agua es unas 50 veces mayor que el que impulsa la entrada de CO_2. Esto es debido, en gran parte, a la baja concentración de CO_2 en el aire (alrededor del 0,03%) y a la concentración relativamente alta de vapor de agua en la hoja.
2. El CO_2 difunde 1,6 veces más lentamente a través del aire que el agua (la molécula de CO_2 es más grande que la de H_2O y tiene un coeficiente de difusión más pequeño).
3. El CO_2 incorporado ha de atravesar la membrana plasmática, el citoplasma y la envoltura del cloroplasto antes de ser asimilado en el cloroplasto. Estas membranas se añaden a la resistencia de la ruta de difusión del CO_2.

Algunas plantas están especialmente adaptadas a la vida en entornos o estaciones del año particularmente secos. Estas plantas, llamadas plantas C_4 y CAM, emplean variaciones de la ruta fotosintética normal para la fijación del CO_2. Las plantas con fotosíntesis C_4 (en las que un compuesto de cuatro carbonos es el primer producto estable de la fotosíntesis, véase el capítulo 8) generalmente transpiran menos agua por molécula de CO_2 fijada; la tasa de transpiración típica para las plantas C_4 es de 250. Las plantas adaptadas a ambientes desérticos con fotosíntesis CAM (metabolismo ácido de las crasuláceas), en las que el CO_2 es inicialmente fijado en ácidos orgánicos de cuatro carbonos durante la noche, tienen una tasa de transpiración aún más baja, no siendo extraños valores alrededor de 50.

VISIÓN GENERAL: EL CONTINUO SUELO-PLANTA-ATMÓSFERA

Hemos visto que el movimiento del agua desde el suelo a través de la planta hasta la atmósfera implica diferentes mecanismos de transporte:

- En el suelo y en el xilema el agua se mueve por un flujo másico en respuesta a un gradiente de presión ($\Delta \Psi_p$).
- En la fase gaseosa, el movimiento se produce principalmente por difusión, al menos hasta que el agua alcanza el aire exterior, donde domina la convección (una forma de flujo másico).
- Cuando el transporte de agua se produce a través de las membranas, la fuerza impulsora es el gradiente de potencial hídrico a través de la membrana. Dicho flujo osmótico se produce cuando las células absorben agua y cuando las raíces transportan agua desde el suelo al xilema.



Localización	Potencial hídrico y sus componentes (en MPa)				
	Potencial hídrico (Ψ_w)	Presión (Ψ_p)	Potencial osmótico (Ψ_s)	Gravedad (Ψ_g)	Potencial hídrico en la fase gaseosa $\left(\frac{RT}{\bar{V}_w} \ln (RH)\right)$
Atmósfera externa (humedad relativa = 50%)	–95,2				–95,2
Espacio aéreo interno de la hoja	–0,8				–0,8
Pared celular del mesofilo (a 10 m)	–0,8	–0,7	–0,2	0,1	
Vacuola del mesofilo (a 10 m)	–0,8	0,2	–1,1	0,1	
Xilema de la hoja (a 10 m)	–0,8	–0,8	–0,1	0,1	
Xilema de la raíz (cerca de la superficie)	–0,6	–0,5	–0,1	0,0	
Vacuola de célula radical (cerca de la superficie)	–0,6	0,5	–1,1	0,0	
Suelo adyacente a la raíz	–0,5	–0,4	–0,1	0,0	
Suelo a 10 mm de la raíz	–0,3	–0,2	–0,1	0,0	

Figura 4.16 Visión global del potencial hídrico y sus componentes en varios puntos de la ruta de transporte desde el suelo a la atmósfera a través de la planta. El potencial hídrico (ψ_w) puede medirse a lo largo de este continuo, aunque sus componentes varían. En la parte líquida de la ruta, la presión (ψ_p), el potencial osmótico (ψ_s) y la gravedad (ψ_g) determinan el ψ_w. En el aire, sólo la humedad relativa (RT/ ln (HR)) es importante. Obsérvese que, aunque el potencial hídrico es el mismo en la vacuola de una célula del mesofilo que en la pared celular que la rodea, los componentes del ψ_w difieren mucho (así, en este ejemplo, ψ_p en el interior de la célula del mesofilo es 0,2 MPa mientras que fuera es –0,7 MPa). (Según Nobel 1983).

En todas estas situaciones, *el agua se mueve hacia zonas de menor potencial hídrico o energía libre*. Este fenómeno se ilustra en la figura 4.16, que muestra valores representativos para el potencial hídrico y sus componentes en varios puntos a lo largo de la ruta de transporte de agua.

El potencial hídrico disminuye continuamente desde el suelo a las hojas. Sin embargo, los componentes del potencial hídrico pueden ser muy diferentes en distintos puntos de la ruta. Por ejemplo, dentro de las células del mesofilo de las hojas el potencial hídrico es aproximadamente el mismo que en el xilema vecino, aún siendo sus componentes bastante diferentes. El componente dominante del Ψ_w en el xilema es la presión negativa (Ψ_p), mientras que en la célula de la hoja el Ψ_p suele ser positivo. Esta gran diferencia en el Ψ_p se produce a través de la membrana plasmática de las células de la hoja. En éstas, el potencial hídrico se reduce por la alta concentración de solutos disueltos (Ψ_s bajo).

RESUMEN

El agua es un medio esencial para la vida. Las plantas terrestres se enfrentan a una posible desecación por pérdidas de agua a la atmósfera. Este problema se ve agravado por la gran superficie de las hojas, la elevada energía radiante que les llega y la necesidad de abrir sus estomas para incorporar el CO_2. Por ello, se genera un conflicto entre la necesidad de conservar el agua y la de asimilar el CO_2.

La exigencia de resolver este conflicto vital condiciona gran parte de la estructura de las plantas terrestres: (1) un extenso sistema radical para extraer el agua del suelo; (2) una ruta de baja resistencia a través de los vasos y traqueidas del xilema para transportar el agua a las hojas; (3) una cutícula hidrofóbica que recubre la superficie de la planta para reducir la evaporación; (4) estomas microscópicos en la superficie de las hojas para permitir el intercambio gaseoso; y (5) células guarda para regular el diámetro (y la resistencia difusional) de la apertura de los estomas.

El resultado es un organismo que transporta agua desde el suelo a la atmósfera en respuesta a fuerzas puramente físicas. La planta no gasta energía directamente en el transporte de agua, aunque el desarrollo y mantenimiento de las estructuras necesarias para realizar un transporte de agua eficiente y controlado sí que requiere un gran aporte de energía.

El mecanismo de transporte de agua desde el suelo a través del cuerpo de la planta hasta la atmósfera incluye la difusión, el flujo másico y la ósmosis. Cada uno de esos procesos está acoplado a diferentes fuerzas impulsoras.

El agua en la planta puede ser considerada como un sistema hidráulico continuo, conectando el agua del suelo con el vapor de agua de la atmósfera. La transpiración está regulada principalmente por las células guarda, que regulan el tamaño del poro

estomático para optimizar la demanda fotosintética de CO_2 minimizando las pérdidas de agua a la atmósfera. La evaporación del agua desde las paredes celulares de las células del mesofilo de las hojas genera presiones negativas grandes (o tensiones) en el agua apoplástica. Estas presiones negativas son transmitidas al xilema y succionan el agua a través de los conductos del xilema.

Aunque algunos aspectos de la teoría de la tensión-cohesión del ascenso de la savia son debatidos recurrentemente, existen evidencias que apoyan la idea de que el transporte de agua en el xilema está impulsado por gradientes de presiones. Cuando la transpiración es intensa, las presiones negativas en el agua del xilema pueden provocar cavitación (embolias) en el xilema. Estas embolias pueden bloquear el transporte de agua y provocar un déficit grave de agua en la hoja. Los déficits de agua son comunes en las plantas, por lo que se han desarrollado multitud de respuestas adaptativas que modifican la fisiología y el desarrollo de las plantas.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

4.1 La irrigación
Análisis de algunos de los métodos de irrigación más extendidos y su impacto en el rendimiento del cultivo y la salinidad del suelo.

4.2 La conductividad hidráulica y el potencial hídrico del suelo
La conductividad hidráulica del suelo determina la facilidad con la que el agua se mueve a través del suelo, lo que está íntimamente relacionado con el potencial hídrico del suelo.

4.3 La conductancia hidráulica de las raíces
Se realiza un análisis de la conductancia hidráulica de las raíces y se presenta un ejemplo de su cuantificación.

4.4 Cálculo de las velocidades del movimiento de agua en el xilema y en células vivas
Cálculo de la velocidad del movimiento del agua, en su ascensión a través del xilema del tronco de un árbol y atravesando las membranas celulares en un tejido, y sus implicaciones en el mecanismo de transporte del agua.

4.5 La transpiración foliar y los gradientes de vapor de agua
Análisis de la transpiración foliar y de la conductancia estomática, y su relación con las concentraciones de vapor de agua en la hoja y en el aire.

ENSAYOS WEB

4.1 Breve historia del estudio del movimiento del agua en el xilema
La historia de nuestro conocimiento del ascenso de la savia en la planta, especialmente en árboles, es un bonito ejemplo de cómo se adquieren conocimientos sobre las plantas.

4.2 La teoría de la tensión-cohesión a estudio
Un análisis detallado de la teoría de la tensión-cohesión del ascenso de la savia en plantas y algunas explicaciones alternativas.

4.3 Cómo puede subir el agua a la copa de un árbol de 112 metros de altura
Las medidas de la fotosíntesis y de la transpiración en un árbol de 112 metros de altura muestra que algunas de las condiciones experimentadas por la parte superior del follaje son comparables con las de los desiertos extremos.

4.4 La cavitación y su recuperación
Se está investigando activamente un posible mecanismo de reparación de la cavitación.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Balling A. y Zimmermann U. (1990) Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of the pressure bomb and pressure probe. *Planta* 182: 325–338.

Bange G. G. J. (1953) On the quantitative explanation of stomatal transpiration. *Acta Botanica Neerlandica* 2: 255–296.

Canny M. J. (1998) Transporting water in plants. *Am. Sci.* 86: 152–159.

Davis S. D., Sperry J. S. y Hacke U. G. (1999) The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *Am. J. Bot.* 86: 1367–1372.

Esau K. (1953) *Plant Anatomy*. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Frensch J., Hsiao T. C. y Steudle E. (1996) Water and solute transport along developing maize roots. *Planta* 198: 348–355.

Hacke U. G., Stiller V., Sperry J. S., Pittermann J. y McCulloh K. A. (2001) Cavitation fatigue: Embolism and refilling cycles can weaken the cavitation resistance of xylem. *Plant Physiol.* 125: 779–786.

Holbrook N. M., Ahrens E. T., Burns M. J. y Zwieniecki M. A. (2001) In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging. *Plant Physiol.* 126: 27–31.

Holbrook N. M., Burns M. J. y Field C. B. (1995) Negative xylem pressures in plants: A test of the balancing pressure technique. *Science* 270: 1193–1194.

Jackson G. E., Irvine J. y Grace J. (1999) Xylem acoustic emissions and water relations of *Calluna vulgaris* L. at two climatological regions of Britain. *Plant Ecol.* 140: 3–14.

Jarvis P. G. y Mansfield T. A. (1981) *Stomatal Physiology.* Cambridge University Press, Cambridge.

Jensen C. R., Mogensen V. O., Poulsen H.-H., Henson I. E., Aagot S., Hansen E., Ali M. y Wollenweber B. (1998) Soil water matric potential rather than water content determines drought responses in field-grown lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aust. J. Plant Physiol.* 25: 353–363.

Kramer P. J. y Boyer J. S. (1995) *Water Relations of Plants and Soils.* Academic Press, San Diego, CA.

Meidner H. y Mansfield D. (1968) *Stomatal Physiology*. McGraw-Hill, London.

Melcher P. J., Meinzer F. C., Yount D. E., Goldstein G. y Zimmermann U. (1998) Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *J. Exp. Bot.* 49: 1757–1760.

Nobel P. S. (1999) *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, 2ª ed. Academic Press, San Diego, CA.

Palevitz B. A. (1981) The structure and development of guard cells. En *Stomatal Physiology*, P. G. Jarvis and T. A. Mansfield, eds., Cambridge University Press, Cambridge, págs. 1–23.

Pockman W. T., Sperry J. S. y O'Leary J. W. (1995) Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* 378: 715–716.

Sack F. D. (1987) The development and structure of stomata. En *Stomatal Function*, E. Zeiger, G. Farquhar e I. Cowan, eds., Stanford University Press, Stanford, CA, págs. 59–90.

Sharpe P. J. H., Wu H.-I. y Spence R. D. (1987) Stomatal mechanics. En *Stomatal Function*, E. Zeiger, G. Farquhar e I. Cowan, eds., Stanford University Press, Stanford, CA, págs. 91–114.

Steudle E. (2001) The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 847–875.

Steudle E. y Frensch J. (1996) Water transport in plants: Role of the apoplast. *Plant and Soil* 187: 67–79.

Tyree M. T. (1997) The cohesion-tension theory of sap ascent: Current controversies. *J. Exp. Bot.* 48: 1753–1765.

Tyree M. T. y Sperry J. S. (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 19–38.

Wei C., Tyree M. T. y Steudle E. (1999) Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants: A test of the cohesion-tension theory taking hydraulic architecture into consideration. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 121: 1191–1205.

Zeiger E. y Hepler P. K. (1976) Production of guard cell protoplasts from onion and tobacco. *Plant Physiol.* 58: 492–498.

Ziegler H. (1987) The evolution of stomata. En *Stomatal Function*, E. Zeiger, G. Farquhar e I. Cowan, eds., Stanford University Press, Stanford, CA, págs. 29–58.

Zimmermann M. H. (1983) *Xylem Structure and the Ascent of Sap.* Springer, Berlin.

Capítulo 5

NUTRICIÓN MINERAL

LOS NUTRIENTES MINERALES SON ELEMENTOS incorporados principalmente en forma de iones inorgánicos. Aunque los nutrientes minerales siguen un ciclo a través de todos los organismos, entran en la biosfera a través del sistema radical de la planta, por lo que en cierto modo las plantas son los «mineros» de la corteza terrestre (Epstein 1999). La gran área superficial de las raíces y su capacidad para absorber nutrientes minerales a bajas concentraciones en el suelo hacen de la absorción mineral un proceso muy eficaz. Tras su absorción por las raíces, los nutrientes minerales son distribuidos a diferentes partes de la planta para su utilización en importantes funciones biológicas. Otros organismos, como hongos micorrízicos y bacterias fijadoras de nitrógeno, participan con frecuencia con los sistemas radicales en la adquisición de nutrientes.

El estudio del modo de asimilación de los nutrientes minerales por parte de las plantas se denomina **nutrición mineral**. Esta área de investigación constituye el centro de la agricultura moderna y la protección del medio ambiente. Los altos rendimientos agrícolas dependen en gran medida de la fertilización con nutrientes minerales. De hecho, los rendimientos de la mayoría de los cultivos aumentan linealmente con la cantidad de fertilizante que absorben (Loomis y Conner 1992). Para satisfacer la creciente demanda de alimento, la demanda mundial de elementos minerales en fertilizantes primarios (nitrógeno, fósforo y potasio) pasó de los 112 millones de toneladas métricas en 1980 a los 143 millones de toneladas métricas en 1990, y se ha mantenido constante durante la última década.

No obstante, los cultivos vegetales emplean menos de la mitad del fertilizante que se les aplica (Loomis y Conner 1992). El resto de minerales se lixivian a las aguas superficiales o subterráneas, y se unen a las partículas del suelo o contribuyen a la contaminación del aire. Como consecuencia de la lixiviación de fertilizantes, muchas aguas en los Estados Unidos sobrepasan los estándares federales de contenido en nitrógeno del agua potable (Nolan y Stonner 2000). Las plantas son el método tradicional de reciclaje de los residuos animales y constituyen una forma útil de eliminar

minerales perjudiciales de residuos tóxicos (Macek y col. 2000). Debido a la naturaleza compleja de las relaciones planta-suelo-atmósfera, las investigaciones en esta área implican a químicos atmosféricos, edafólogos, hidrólogos, microbiólogos y ecólogos, así como a fisiólogos vegetales.

En este capítulo trataremos primero las necesidades nutricionales de las plantas, los síntomas de carencias nutricionales específicas y el uso de fertilizantes para asegurar la nutrición vegetal. Analizaremos cómo el suelo y las raíces influyen en la transferencia de nutrientes desde el suelo a la planta. Finalmente, introduciremos el tema de las asociaciones en micorrizas. Para aspectos adicionales sobre el transporte y la asimilación de los nutrientes consúltense los capítulos 6 y 12, respectivamente.

NUTRIENTES ESENCIALES, CARENCIAS Y DESÓRDENES VEGETALES

Sólo algunos elementos son considerados esenciales para el crecimiento vegetal. Se define un **elemento esencial** como aquél cuya ausencia impide a la planta completar su ciclo vital (Arnon y Stout 1939) o aquél que tiene un papel fisiológico claro (Epstein 1999). La disponibilidad de estos elementos esenciales y la energía de la luz del sol permiten a las plantas la síntesis de todos los compuestos que son necesarios para su crecimiento normal. En la tabla 5.1 se muestran los elementos que se consideran esenciales para la mayoría de las plantas superiores, pero no todas. Los tres primeros elementos (hidrógeno, carbono y oxígeno) no se consideran nutrientes minerales porque se obtienen principalmente a partir del agua y del dióxido de carbono.

Los elementos esenciales se clasifican normalmente en macronutrientes y micronutrientes, de acuerdo con su concentración relativa en el tejido vegetal. En algunos casos, las diferencias en el contenido tisular de macronutrientes y micronutrientes no son tan grandes como las que se muestran en la tabla 5.1. Por ejemplo, algunos tejidos vegetales como el mesofilo, tienen casi tanto hierro o manganeso como azufre o magnesio. Con frecuencia muchos elementos están presentes en concentraciones mayores que las cantidades mínimas necesarias para la planta.

Algunos investigadores han argumentado que una clasificación en macronutrientes y micronutrientes es difícil de justificar fisiológicamente. Mengel y Kirkby (1987) han propuesto que los elementos esenciales deberían clasificarse de acuerdo con su papel biológico y su función fisiológica. Esta clasificación se muestra en la tabla 5.2, en la que los nutrientes vegetales se han dividido en cuatro grupos básicos:

1. El primer grupo incluye los elementos que forman los compuestos orgánicos (con carbono) de la planta. Las plantas asimilan estos nutrientes en reacciones bioquímicas que incluyen la carboxilación y la oxidación-reducción.

TABLA 5.1
Concentraciones tisulares adecuadas de los elementos necesarios para las plantas

Elemento	Símbolo químico	Concentración en materia seca (% o ppm)ᵃ	Número relativo de átomos respecto al molibdeno
Obtenidos del agua o del dióxido de carbono			
Hidrógeno	H	6	60.000.000
Carbono	C	45	40.000.000
Oxígeno	O	45	30.000.000
Obtenidos del suelo			
Macronutrientes			
Nitrógeno	N	1,5	1.000.000
Potasio	K	1,0	250.000
Calcio	Ca	0,5	125.000
Magnesio	Mg	0,2	80.000
Fósforo	P	0,2	60.000
Azufre	S	0,1	30.000
Silicio	Si	0,1	30.000
Micronutrientes			
Cloro	Cl	100	3.000
Hierro	Fe	100	2.000
Boro	B	20	2.000
Manganeso	Mn	50	1.000
Sodio	Na	10	400
Cinc	Zn	20	300
Cobre	Cu	6	100
Níquel	Ni	0,1	2
Molibdeno	Mo	0,1	1

Fuente: Epstein 1972, 1999.
[a]Los valores para los elementos no minerales (H, C, O) y los de los macronutrientes son porcentajes y los micronutrientes están expresados en partes por millón (ppm).

2. El segundo grupo es importante en reacciones de almacenamiento de energía o de mantenimiento de la integridad estructural. Los elementos de este grupo se encuentran con frecuencia en los tejidos vegetales en forma de fosfatos, boratos y ésteres de silicato, en los que el grupo elemental está unido al grupo hidroxilo de una molécula orgánica (por ejemplo, azúcares-fosfato).
3. Los elementos del tercer grupo se presentan en los tejidos vegetales bien como iones libres, bien como iones unidos a sustancias como ácidos pécticos presentes en la pared celular vegetal. Resultan especialmente importantes sus funciones como cofactores enzimáticos y en la regulación de los potenciales osmóticos.
4. El cuarto grupo tiene importantes funciones en reacciones que implican una transferencia electrónica.

TABLA 5.2
Clasificación de los nutrientes minerales de las plantas de acuerdo con su función bioquímica

Nutriente mineral	Funciones
Grupo 1	**Nutrientes que forman parte de compuestos orgánicos**
N	Constituyente de aminoácidos, amidas, proteinas, ácidos nucleicos, nucleótidos, coenzimas, hexoaminas, etc.
S	Componente de cisteína, cistina, metionina y proteínas. Constituyente de ácido lipoico, coenzima A, pirofosfato de tiamina, glutatión, biotina, adenosina-5'-fosfosulfato y 3'-fosfoadenosina.
Grupo 2	**Nutrientes importantes en el almacenamiento de energía o integridad estructural**
P	Componente de azúcares-fosfato, ácidos nucleicos, nucleótidos, coenzimas, fosfolípidos, ácido fítico, etc. Tiene un papel clave en las reacciones que implican ATP.
Si	Se deposita como silicio amorfo en las paredes celulares y contribuye a sus propiedades mecánicas, incluidas la rigidez y la elasticidad.
B	Forma complejos con manitol, ácido polimanurónico y otros constituyentes de las paredes celulares. Está implicado en la elongación celular y en el metabolismo de los ácidos nucleicos.
Grupo 3	**Nutrientes que permanecen en forma iónica**
K	Es necesario como cofactor de más de 40 enzimas. Catión principal en el establecimiento de la presión de turgencia celular y en el mantenimiento de la electroneutralidad celular.
Ca	Constituyente de la lámina media de las paredes celulares. Es necesario como cofactor de varios enzimas implicados en la hidrólisis de ATP y fosfolípidos. Actúa como segundo mensajero en la regulación del metabolismo.
Mg	Es necesario para muchos enzimas implicados en la transferencia de grupos fosfato. Constituyente de la clorofila.
Cl	Es necesario para las reacciones fotosintéticas que implican O_2.
Mn	Es necesario para la actividad de algunas deshidrogenasas, descarboxilasas, quinasas, oxidasas y peroxidasas. Está implicado junto con otros enzimas activados por cationes, en la generación de O_2 fotosintético.
Na	Está implicado en la regeneración del fosfoenolpiruvato en las plantas C_4 y CAM. Sustituye al potasio en algunas funciones.
Grupo 4	**Nutrientes implicados en reacciones redox**
Fe	Constituyente de citocromos y proteínas sin grupo hemo implicadas en la fotosíntesis, la fijación del N_2 y la respiración.
Zn	Constituyente de la alcohol deshidrogenasa, la glutamato deshidrogenasa, la anhidrasa carbónica, etc.
Cu	Componente de la ácido ascórbico oxidasa, la tirosinasa, la monoaminooxidasa, la uricasa, la citocromo oxidasa, la fenolasa, la lacasa y la plastocianina.
Ni	Constituyente de la ureasa. En bacterias fijadoras de N_2, es un constituyente de las hidrogenasas.
Mo	Constituyente de la nitrogenasa, la nitrato reductasa y la xantina deshidrogenasa.

Fuentes: Según Evans y Sorger 1966; y Mengel y Kirkby 1979.

Naturalmente, existen otros elementos, diferentes de los que se encuentran en la tabla 5.1, que se pueden acumular en las plantas. Por ejemplo, el aluminio no se considera un elemento esencial, pero las plantas suelen tener entre 0,1 y 500 ppm y, además, niveles bajos de aluminio en una solución nutritiva pueden estimular el crecimiento vegetal (Mareschner 1995). Muchas especies de los géneros *Astragalus*, *Xylorhiza* y *Stanleya* acumulan selenio, aunque las plantas no han mostrado un requerimiento específico para este elemento.

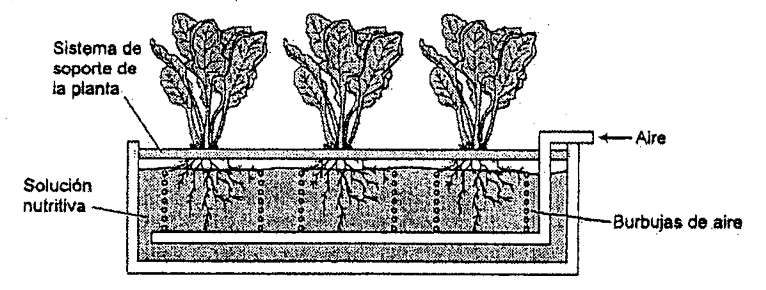
El cobalto es parte de la cobalamina (vitamina B_{12} y sus derivados), un componente de varios enzimas en los organismos fijadores de nitrógeno. Así, una carencia de cobalto bloquea el desarrollo y función de los nódulos fijadores de nitrógeno. No obstante, las plantas que no fijan nitrógeno, así como las plantas fijadoras de nitrógeno a las que se les aporta amonio o nitrato, no requieren cobalto. Normalmente los cultivos vegetales contienen cantidades relativamente pequeñas de los elementos no esenciales.

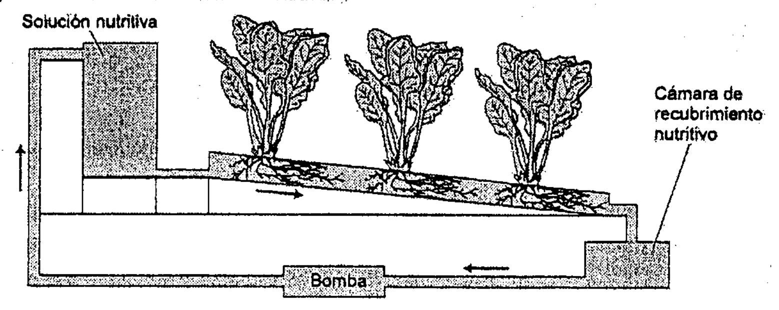
En los estudios nutricionales se han empleado técnicas especiales

Para demostrar el carácter esencial de un elemento, es necesario que las plantas crezcan en condiciones controladas en las que el elemento en estudio no esté presente. Esto es extremadamente difícil de conseguir en plantas que han crecido en un medio complejo como es el suelo. En el siglo XIX, muchos investigadores como Nicolas-Théodore de Saussure, Julius von Sachs, Jean-Baptiste-Joseph-Dieudonné Boussingault y Wilhelm Knop, abordaron este problema haciendo crecer las plantas con las raíces sumergidas en **soluciones nutritivas** que contenían únicamente sales inorgánicas. La demostración de que las plantas podían crecer sin suelo o materia orgánica probó, inequívocamente, que las plantas pueden cubrir todas sus necesidades a partir de elementos inorgánicos y luz.

La técnica en la que se hacen crecer las plantas en soluciones nutritivas sin suelo se denomina cultivo en solución o **hidropónico** (Gericke 1937). Para realizar un cultivo hidropónico (Figura 5.1A) se necesita un gran volumen de solución nutritiva o un ajuste frecuente de las soluciones nutritivas para evitar los cambios en las concentraciones de nutrientes y en el pH del medio, que tienen lugar como resultado de la absorción de los nutrientes por parte de las raíces. Se debe proporcionar suficiente oxígeno al sistema radical mediante el burbujeo de aire en el medio.

Los cultivos hidropónicos pueden realizarse en invernaderos con fines comerciales. Una de las formas comerciales de cultivos hidropónicos consiste en hacer crecer las plantas en un soporte material como arena, grava o vermiculita. Las soluciones nutritivas pueden así añadirse sobre el soporte material y las viejas soluciones pueden ser eliminadas por lixiviación. Otra forma de cultivos hidropónicos consiste en





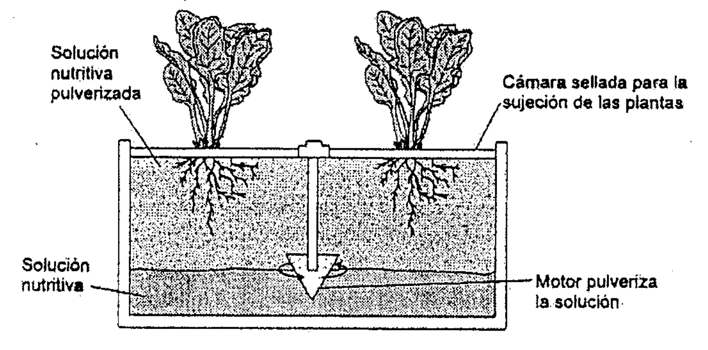


Figura 5.1 Sistemas hidropónico y aeropónico para el cultivo de plantas en soluciones nutritivas en las que la composición y el pH pueden controlarse automáticamente. (A) En un sistema hidropónico, las raíces están sumergidas en la solución nutritiva y se burbujea el aire a través de la solución. (B) Una alternativa al sistema hidropónico, que se usa con frecuencia en la producción comercial, es el sistema de cultivo con una fina película nutritiva, en el que la solución nutritiva es bombeada como una fina película por debajo de la planta, cerca de las raíces. En este sistema, la composición y el pH de la solución nutritiva se pueden controlar automáticamente. (C) En el sistema aeropónico, las raíces están suspendidas sobre la solución nutritiva, que es rociada por un rotor accionado por un motor. (C según Weathers y Zobel 1992).

recircular las soluciones nutritivas por una fina capa que fluye por los alrededores de las raíces de las plantas (Cooper 1979, Asher y Edwards, 1983). Este **sistema de cultivo** conocido como «**lámina nutritiva**» asegura que las raíces reciben un gran aporte de oxígeno (Figura 5.1B).

Otra alternativa, que llegó a considerarse el medio del futuro, es hacer crecer las plantas **aeropónicamente** (Weathers y Zobel 1992). En esta técnica, las plantas crecen con las raíces suspendidas en el aire, siendo pulverizadas continuamente con solución nutritiva (Figura 5.1C). Esta aproximación facilita la manipulación del entorno gaseoso alrededor de las raíces, pero requiere mayores cantidades de nutrientes que el cultivo hidropónico para mantener un crecimiento vegetal rápido. Por esta razón y otras dificultades técnicas, el uso de la aeroponía no está muy extendido.

Las soluciones nutritivas pueden mantener un crecimiento vegetal rápido

A lo largo de los años se han empleado numerosas formulaciones para soluciones nutritivas. Las primeras formulaciones fueron hechas por Knop en Alemania y contenían KNO_3, $Ca(NO_3)_2$, KH_2PO_4, $MgSO_4$ y una sal de hierro. En ese momento se consideró que esta solución nutritiva contenía todos los componentes necesarios para la planta, pero los experimentos fueron realizados con compuestos químicos contaminados con otros elementos de los que ahora se sabe que son esenciales (como el molibdeno o el boro). Un ejemplo de una formulación moderna para una solución nutritiva es la que se muestra en la tabla 5.3. Esta formulación se denomina **solución de Hoagland modificada**, llamada así en honor a Dennis R. Hoagland, un científico destacado en la investigación moderna sobre nutrientes minerales en los Estados Unidos.

La solución de Hoagland modificada contiene todos los elementos necesarios para un crecimiento vegetal rápido. Las concentraciones de estos elementos son máximas sin provocar síntomas de toxicidad o estrés salino, y por lo tanto pueden ser varios órdenes de magnitud superior a las que las raíces vegetales encuentran en el suelo. Por ejemplo, mientras que el fósforo está presente en la solución del suelo a una concentración menor de 0,06 ppm, en esta solución se emplean 62 ppm (Epstein 1972). Estos niveles iniciales tan altos permiten el cultivo de las plantas en el medio durante largos periodos sin necesidad de reemplazar los nutrientes. No obstante, muchos investigadores diluyen las soluciones nutritivas varias veces y las reponen frecuentemente para evitar fluctuaciones en las concentraciones de nutrientes del medio y del tejido vegetal.

Otra propiedad importante de esta formulación es que el nitrógeno se aporta como mezcla de amonio (NH_4^+) y de nitrato (NO_3^-). El aporte de nitrógeno en un equilibrio mixto de cationes y aniones tiende a reducir el rápido aumento de pH del medio

TABLA 5.3
Composición de la solución nutritiva de Hoagland modificada para el crecimiento de las plantas

Componente	Masa molecular	Concentración de la solución stock	Concentración la solución de la solución stock	Volumen de stock por litro de solución final	Elemento	Concentración final	
	g mol⁻¹	mM	g L⁻¹	mL		µM	ppm
Macronutrientes							
KNO_3	101,10	1.000	101,10	6,0	N	16.000	224
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	236,16	1.000	236,16	4,0	K	6.000	235
$NH_4H_2PO_4$	115,08	1.000	15,08	2,0	Ca	4.000	160
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246,48	1,000	246,49	1,0	P	2.000	62
					S	1.000	32
					Mg	1.000	24
Micronutrientes							
KCl	74,55	25	1,884		Cl	50	1,77
H_3BO_4	61,83	12,5	0,773		B	25	0,27
$MnSO_4 \cdot H_2O$	169,01	1,0	0,169		Mn	2,0	0,11
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	287,54	1,0	0,288	2,0	Zn	2,0	0,13
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	249,68	0,25	0,062		Cu	0,5	0,03
H_2MoO_4 (MoO_3 85%)	161,97	0,25	0,040		Mo	0,5	0,05
NaFeDTPA (Fe 10 %)	468,20	64	30,0	0,3–1,0	Fe	16,1–53,7	1,00-3,00
Opcional[a]							
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	262,86	0,25	0,066	2,0	Ni	0,5	0,03
$Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$	284,20	1.000	284,20	1,0	Si	1.000	28

Fuente: Adaptado de Epstein, 1972
Nota: Los macronutrientes se añaden por separado, a partir de soluciones stock, para evitar la precipitación de nutrientes durante la preparación de la solución nutritiva. Se prepara una solución stock combinada con todos los micronutrientes, excepto el hierro. El hierro se añade como dietilentriaminopentaacetato férrico de sodio (NaFeDTPA, nombre registrado como Sequestrene 330 Fe por Ciba-Geigy; véase la figura 5.2); algunas plantas como el maíz, necesitan niveles superiores de hierro a los mostrados en la tabla.
[a] El níquel normalmente está presente como contaminante de otros compuestos químicos, por eso muchas veces no necesita ser añadido explícitamente. El silicio, si se incluye, deberá ser añadido primero y ajustar el pH con HCl para evitar la precipitación de otros nutrientes.

que normalmente se observa cuando el nitrógeno se aporta sólo como anión nitrato (Asher y Edwards 1983). Incluso cuando el pH del medio se mantiene neutro, la mayoría de las plantas crecen mejor si tienen acceso a NH_4^+ y NO_3^- porque la absorción y asimilación de las dos formas del nitrógeno promueve un equilibrio anión-catión en el interior de la planta (Raven y Smith 1976; Bloom 1994).

Un problema significativo en el crecimiento de las plantas en las soluciones nutritivas es el aporte de cantidades suficientes de hierro. Cuando el hierro se aporta en forma de sal inorgánica, como $FeSO_4$ o $Fe(NO_3)_2$, puede precipitar en la solución en forma de hidróxido de hierro. La presencia de sales de fosfato provocaría la formación de fosfato de hierro, que es insoluble. Esta precipitación del hierro lo hace inservible para la planta, a menos que las sales de hierro se añadan a intervalos fre-

cuentes. Los primeros intentos de solucionar este problema se basaban en la adición de hierro junto a ácido cítrico o ácido tartárico en la solución nutritiva. Estos compuestos se llaman **agentes quelantes** porque forman un complejo soluble con cationes como el hierro o el calcio, en los que el catión es retenido por fuerzas iónicas (más que por enlaces covalentes), quedando así los cationes quelados físicamente disponibles para la planta.

Las formulaciones más modernas de las soluciones nutritivas incluyen el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o el ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA o ácido pentético) como agentes quelantes (Sievers y Bailar 1962). Se muestra la estructura del DTPA en la figura 5.2. El destino del complejo quelante durante la incorporación del hierro en las células de la raíz no está claro; el hierro podría ser liberado del quelante cuando es reducido de Fe^{3+} a Fe^{2+} en la superficie de la raíz. El quelante puede entonces difundir a la solución nutritiva (o al suelo) y reaccionar con otro ión Fe^{3+} u otro ión metálico. Tras su incorporación, el hierro se mantiene soluble quelado por compuestos orgánicos presentes en las plantas. El ácido cítrico puede jugar un papel importante en la formación de quelatos con hierro y en el transporte a larga distancia a través del xilema.

Las carencias minerales interrumpen el metabolismo y las funciones vegetales

El aporte inadecuado de un elemento esencial provoca un desorden nutricional que se manifiesta en síntomas característicos de dicha carencia. En los cultivos hidropónicos es posible asociar la carencia de un elemento esencial con un conjunto de síntomas de deficiencia aguda. En las plantas que crecen en suelo, el diagnóstico puede ser más complejo, debido a las siguientes razones:

- Se pueden producir carencias crónicas y agudas de varios elementos simultáneamente.
- La carencia o el exceso de un elemento pueden inducir una carencia o una acumulación excesiva de otro.
- Algunos virus inducen enfermedades en las plantas cuyos síntomas son similares a los que producen las carencias nutritivas.

Los síntomas de las carencias de nutrientes en una planta son la expresión de desórdenes metabólicos consecuencia del aporte insuficiente de un elemento esencial. Estos desórdenes están relacionados con algunas funciones desarrolladas por los elementos esenciales en el metabolismo normal de una planta. En la tabla 5.2 se muestran algunos elementos esenciales y su papel en las células vegetales.

Figura 5.2 Estructura química del quelante DPTA solo (A) y quelado con el ión Fe^{3+} (B). El hierro se une al DPTA mediante la interacción con tres átomos de nitrógeno y los tres átomos de oxígeno ionizados de los grupos carboxilato (Sievers y Bailar 1962). La estructura resultante en anillo atrapa al ión metálico y neutraliza su reactividad en solución. Durante la incorporación del hierro en la superficie radical, el Fe^{3+} es reducido a Fe^{2+} y se libera del complejo hierro-DPTA. A continuación, el quelante puede unirse a otros iones Fe^{3+} disponibles.

A pesar de que cada elemento esencial participa en muchas reacciones metabólicas diferentes, es posible establecer algunos principios generales sobre las funciones de los elementos esenciales en el metabolismo vegetal. En general, los elementos esenciales participan en la estructura vegetal, en las funciones metabólicas y en la osmorregulación de las células vegetales. Puede haber otras funciones más específicas relacionadas con la capacidad de los cationes divalentes, como el calcio o el magnesio, de modificar la permeabilidad de las membranas vegetales. Además, los investigadores siguen intentando asignar nuevas funciones específicas a estos elementos en el metabolismo vegetal; por ejemplo, el calcio regula los enzimas clave en el citosol (Hepler y Wayne 1985; Sanders y col. 1999). Así pues, muchos elementos esenciales tienen numerosas funciones en el metabolismo vegetal.

TABLA 5.4
Elementos minerales clasificados de acuerdo con su movilidad en la planta y su tendencia a retransportarse durante las carencias

Móvil	Inmóvil
Nitrógeno	Calcio
Potasio	Azufre
Magnesio	Hierro
Fósforo	Boro
Cloro	
Sodio	
Zinc	
Molibdeno	

Nota: Los elementos se han ordenado de acuerdo con su abundancia en la planta

Cuando se relacionan los síntomas de una carencia aguda con el papel de un elemento esencial, una consideración importante es el grado de reciclaje que puede sufrir un elemento desde las hojas más viejas a las más jóvenes. Algunos elementos como el nitrógeno, el fósforo y el potasio pueden moverse de hoja a hoja rápidamente, mientras que otros como el boro, el hierro y el calcio son relativamente inmóviles en la mayoría de las especies vegetales (Tabla 5.4). Si un elemento esencial es móvil, los síntomas de las carencias se presentarán primero en las hojas más viejas. Por otro lado, la carencia de un elemento esencial inmóvil será evidente primero en las hojas más jóvenes. Aunque no se conoce bien el mecanismo preciso del proceso de movilización, parece haber implicadas hormonas vegetales como las citoquininas (véase el capítulo 21). En el siguiente análisis se describirán los síntomas de carencia específicos de los elementos esenciales tal y como están agrupados en la tabla 5.2, así como su papel funcional.

Grupo 1: Carencias de nutrientes minerales que forman parte de los compuestos orgánicos. En este primer grupo se encuentran el nitrógeno y el azufre. La disponibilidad de nitrógeno en los suelos limita la producción vegetal en la mayoría de los ecosistemas agrícolas y naturales. Por el contrario, los suelos, generalmente, contienen azufre en exceso. Sin embargo, el nitrógeno y el azufre comparten la propiedad de contar con un amplio rango de estados de oxidación-reducción (véase el capítulo 12). Algunas de las reacciones más energéticas de los organismos vivos transforman las formas inorgánicas del suelo con elevados estados de oxidación, en formas altamente reducidas en compuestos orgánicos como los aminoácidos.

NITRÓGENO. El nitrógeno es el elemento mineral del que las plantas necesitan mayor cantidad. Actúa como constituyente de muchos componentes celulares, como aminoácidos y ácidos nucleicos. Así, una carencia de nitrógeno inhibe rápidamente el crecimiento vegetal. Si dicha carencia persiste, la mayoría de las especies muestran **clorosis** (amarilleo de las hojas), especialmente en las hojas más viejas cerca de la base de la planta (para ver fotos de carencias por nitrógeno y otras carencias minerales descritas en el capítulo, véase el **tema web 5.1**). En condiciones de carencia aguda de nitrógeno, estas hojas llegan a estar completamente amarillas y acaban cayendo de la planta. Las hojas más jóvenes no suelen mostrar estos síntomas inicialmente, porque el nitrógeno puede movilizarse desde las hojas más viejas. Así, una planta con carencia de nitrógeno puede tener un color verde brillante en las hojas superiores y un color amarillo en las hojas inferiores.

Cuando la carencia de nitrógeno se desarrolla lentamente, las plantas pueden presentar tallos muy delgados y leñosos. Este aspecto carencial puede ser debido a la producción de un exceso de carbohidratos que no son utilizados en la síntesis de aminoácidos u otros compuestos de nitrógeno. Los carbohidratos no utilizados en el metabolismo

del nitrógeno se pueden destinar a la síntesis de antocianina, lo que provoca la acumulación de este pigmento. Esto se aprecia por una coloración morada de hojas, pecíolos y tallos de algunas plantas como el tomate y ciertas variedades de maíz.

AZUFRE. El azufre se encuentra en dos aminoácidos y forma parte de varios coenzimas y vitaminas esenciales para el metabolismo. Muchos de los síntomas de la carencia de azufre son similares a los que indican una carencia de nitrógeno, incluidos la clorosis, el crecimiento raquítico y la acumulación de antocianina. Esta coincidencia no sorprende, puesto que tanto el nitrógeno como el azufre son componentes de las proteínas. Sin embargo, la clorosis provocada por la carencia de azufre se suele observar inicialmente en las hojas más jóvenes, en lugar de en las maduras, al contrario de lo que ocurre en la carencia por nitrógeno. Esto es debido a que, a diferencia del nitrógeno, en la mayoría de las especies el azufre no es movilizado con facilidad hacia las hojas jóvenes. No obstante, en muchas especies vegetales la clorosis debida a la carencia de azufre se produce en todas las hojas o incluso se inicia en las hojas más viejas.

Grupo 2: Carencias de nutrientes que son importantes en el almacenamiento de energía o en la integridad estructural. Este grupo incluye el fósforo, el silicio y el boro. El fósforo y el silicio se encuentran en los tejidos vegetales en concentraciones que aseguran su clasificación como macronutrientes, mientras que el boro es mucho menos abundante y se le considera un micronutriente. Estos elementos se encuentran normalmente en la planta en forma de ésteres unidos a moléculas orgánicas.

FÓSFORO. El fósforo (como fosfato, PO_4^{3-}) es un componente fundamental de compuestos importantes de las células vegetales, como los intermediarios azúcar-fosfato de la respiración y la fotosíntesis y los fosfolípidos que forman parte de las membranas vegetales. También es un componente de los nucleótidos utilizados en el metabolismo energético vegetal (como el ATP) y en las moléculas de DNA y RNA. Los síntomas característicos de la carencia de fósforo son el crecimiento raquítico de las plantas jóvenes y la presencia de una coloración verde oscura en las hojas, que pueden estar malformadas y presentar pequeñas manchas de tejido muerto llamadas **manchas necróticas** (para ver fotos, consúltese el **tema web 5.1**).

Al igual que en la carencia de nitrógeno, se pueden formar antocianinas en exceso, lo que provoca una coloración púrpura en las hojas. Pero, a diferencia de lo que ocurre en la carencia por nitrógeno, esta coloración no está asociada con la clorosis. De hecho, es posible que aparezca una coloración verde oscuro-morada. Otros síntomas adicionales de la carencia de fósforo son la producción de tallos finos (pero no leñosos) y la muerte de las hojas más viejas. La maduración de la planta puede retrasarse.

SILICIO. Sólo los miembros de la familia de las equisetáceas (llamada *juncos de fregar* debido a que antes sus cenizas, ricas en silicio, se usaban para fregar) requieren silicio para completar su ciclo vital. Aún así, muchas otras especies acumulan grandes cantidades de silicio en sus tejidos y muestran un aumento del crecimiento y la fertilidad cuando se les aporta silicio en cantidades adecuadas (Epstein 1999).

Las plantas con carencia de silicio son más sensibles a las infecciones fúngicas. El silicio se deposita principalmente en el retículo endoplásmico, las paredes celulares y los espacios intercelulares en forma de sílice amorfa hidratada ($SiO_2 \cdot nH_2O$). También forma complejos con polifenoles y constituye una alternativa a la lignina en el refuerzo de las paredes celulares. Además, el silicio puede reducir la toxicidad de muchos metales pesados.

BORO. Aunque no se conoce la función precisa del boro en el metabolismo vegetal, hay evidencias de que participa en la elongación celular, en la síntesis de ácidos nucleicos, en las respuestas hormonales y en la función de la membrana (Shelp 1993). Las plantas con carencias de boro pueden exhibir una gran variedad de síntomas, según las especies y la edad de las plantas.

Un síntoma característico de la carencia de boro es la necrosis negra en las hojas jóvenes y en las yemas terminales. La necrosis de las hojas jóvenes se produce sobre todo en la base del limbo de la hoja. Los tallos pueden ser anormalmente rígidos y quebradizos. También se puede perder la dominancia apical, de modo que la planta llega a estar muy ramificada; sin embargo, los ápices apicales de las ramas pueden presentar pronto síntomas de necrosis debido a la inhibición de la división celular. Estructuras como el fruto, las raíces carnosas y los tubérculos pueden presentar necrosis o anormalidades relacionadas con la ruptura de los tejidos internos.

Grupo 3: Carencias de nutrientes minerales que permanecen en forma iónica. Este grupo incluye algunos de los elementos minerales más familiares: los macronutrientes potasio, calcio y magnesio, y los micronutrientes cloro, manganeso y sodio. Se pueden encontrar en solución en el citosol o en las vacuolas, o pueden estar unidos electrostáticamente o como ligandos a grandes compuestos que contienen carbono.

POTASIO. El potasio, presente en las plantas como catión K^+, tiene un papel importante en la regulación del potencial osmótico de las células vegetales (véanse los capítulos 3 y 6). También es un activador de muchos enzimas implicados en la respiración y en la fotosíntesis. El primer síntoma observable de la carencia de potasio es la presencia de un moteado o clorosis marginal, que produce una necrosis que se desarrolla primero en el extremo y los márgenes de la hoja y entre los nervios. En muchas monocotiledóneas, esas lesiones necróticas pueden formarse inicialmente en el extremo de la hoja y en los márgenes y extenderse hacia la base de la hoja.

Dado que el potasio puede movilizarse hacia las hojas más jóvenes, estos síntomas aparecen primero en las hojas más viejas, es decir, en las hojas maduras de la base de la planta. También se puede producir el curvado de las hojas. Los tallos de las plantas con carencia de potasio pueden ser delgados y débiles con entrenudos anormalmente cortos. En el maíz con carencia de potasio, las raíces pueden aumentar la susceptibilidad a la presencia de hongos en el suelo, y esta susceptibilidad, junto con los efectos sobre el tallo, da lugar a un aumento en la tendencia de la planta a doblarse fácilmente hacia el suelo (encamado).

CALCIO. Los iones calcio (Ca^{2+}) se utilizan en la síntesis *de novo* de la pared celular, sobre todo de la lámina media, que separa las células recién divididas. También participa en la formación del huso mitótico durante la división celular. El calcio se necesita para el funcionamiento normal de las membranas celulares y está implicado, como segundo mensajero, en un gran número de respuestas vegetales a señales hormonales y ambientales (Sanders y col. 1999). En su función como segundo mensajero, el calcio se puede unir a la **calmodulina**, una proteína que se encuentra en el citosol de las células vegetales. El complejo calcio-calmodulina parece estar implicado en la regulación de un gran número de procesos metabólicos.

Los síntomas característicos de la carencia de calcio incluyen la necrosis de regiones meristemáticas jóvenes, como los extremos de la raíz o de las hojas jóvenes, donde la división celular y la formación de las paredes celulares son mucho más rápidas. La necrosis en plantas de crecimiento lento puede estar precedida por una clorosis general y la curvatura hacia abajo (en forma de gancho) de las hojas jóvenes. Las hojas jóvenes también pueden aparecer deformadas. Si se examina el sistema radical de una planta con carencia de calcio, éste puede presentar un color marrón, ser corto y muy ramificado. Se puede producir un raquitismo grave cuando las regiones meristemáticas de la planta mueren prematuramente.

MAGNESIO. En las células vegetales, los iones magnesio (Mg^{2+}) tienen un papel específico en la activación de los enzimas implicados en la respiración, en la fotosíntesis y en la síntesis de DNA y RNA. El magnesio también forma parte del anillo de la molécula de clorofila (véase la figura 7.6A). Un síntoma característico de la carencia de magnesio es una clorosis entre los nervios, que se produce primero en las hojas más viejas debido a la gran movilidad de este elemento. Este patrón de clorosis se produce debido a que la clorofila en los nudos vasculares no resulta tan afectada durante largos períodos de tiempo como la clorofila de las células entre los nudos terminales. Si la carencia es extensiva, las hojas llegan a adquirir un color amarillo o blanco. Un síntoma adicional de la carencia de magnesio es la abscisión prematura de las hojas.

CLORO. El elemento cloro se encuentran en las plantas en forma de ión cloruro (Cl^-). Se necesita para la reacción de ruptura del agua en la fotosíntesis, con generación de oxígeno (véase el capítulo 7) (Harling y col. 1997). Además, el cloro es necesario en la división celular en hojas y raíces (Harlong y col. 1997). Las plantas con carencia de cloro se marchitan en los extremos de las hojas y, a continuación, desarrollan clorosis y necrosis de las hojas. Las hojas también pueden mostrar crecimiento reducido. En algunos casos, las hojas pueden mostrar un color similar al bronce («bronceado»). Las raíces de plantas afectadas por la carencia de cloro pueden ser enanas o raquíticas y más gruesas en las proximidades de los extremos de la raíz.

Los iones cloruro son muy solubles y se encuentran generalmente disponibles en los suelos, ya que el agua del mar es arrastrada en el aire por el viento y vuelve al suelo con la lluvia. Por eso, la carencia de cloro no se conoce en plantas que crecen en sus hábitats nativos o agrícolas. La mayoría de las plantas absorben cloruros a concentraciones muy superiores a las necesarias para su funcionamiento normal.

MANGANESO. Los iones manganeso (Mn^{2+}) activan un gran número de enzimas en las células vegetales. En concreto, descarboxilasas y deshidrogenasas, implicadas en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs), son activadas por este catión divalente. La función mejor definida del manganeso se da en las reacciones fotosintéticas en las que se genera oxígeno a partir de agua (Marschner 1995). El principal síntoma de la carencia de manganeso es la clorosis entre los nervios, asociada con el desarrollo de pequeñas manchas necróticas. Esta clorosis se puede producir tanto en las hojas jóvenes como en las más viejas, según las especies vegetales y su tasa de crecimiento.

SODIO. La mayoría de las especies que utilizan las rutas C_4 y CAM de fijación del carbono (véase el capítulo 8) necesitan iones sodio (Na^+). En estas plantas el sodio parece ser vital para regenerar el fosfoenolpiruvato, el sustrato de la primera carboxilación de las rutas C_4 y CAM (Johnstone y col. 1988). Cuando se produce una carencia de sodio, estas plantas muestran clorosis y necrosis, e incluso son incapaces de formar flores. Muchas especies C_3 también se benefician de la exposición a bajos niveles de sodio. El sodio estimula el crecimiento, la expansión celular, y puede ser un sustituto parcial del potasio como soluto osmóticamente activo.

Grupo 4: Carencias de nutrientes minerales que están implicados en reacciones redox. Este grupo de cinco micronutrientes incluye los metales hierro, cinc, cobre, níquel y molibdeno. Todos ellos pueden sufrir oxidaciones y reducciones reversibles (por ejemplo, $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$) y tienen importantes funciones en la transferencia de electrones y en la transformación de energía. Normalmente se encuentran en asociación con grandes moléculas como citocromos, clorofilas y proteínas (normalmente enzimas).

HIERRO. El hierro tiene un papel importante como componente de los enzimas implicados en la transferencia de electrones (reacciones redox), como los citocromos. En esta función, el hierro se oxida reversiblemente de Fe^{2+} a Fe^{3+} durante la transferencia de electrones. Al igual que en la carencia de magnesio, un síntoma característico de la carencia de hierro es la clorosis intervenal. Pero a diferencia de lo que ocurre en la carencia de magnesio, este síntoma aparece inicialmente en las hojas más jóvenes debido a que el hierro no se moviliza rápidamente desde las hojas más viejas. En condiciones extremas o prolongadas de carencia, los nervios pueden llegar a ser cloróticos, lo que hace que toda la hoja sea blanca.

La clorosis de las hojas se produce porque el hierro es necesario para la síntesis de algunos complejos proteína-clorofila en los cloroplastos. La baja movilidad del hierro es debida, probablemente, a su precipitación en las hojas más viejas como óxidos insolubles o fosfatos, o a la formación de complejos con fitoferritina, una proteína de unión de hierro presente en las hojas y otras partes de la planta (Oh y col. 1996). La precipitación del hierro reduce la movilización del metal por el floema para su transporte a grandes distancias.

CINC. Muchos enzimas necesitan iones cinc (Zn^{2+}) para su actividad y, además, se requiere para la biosíntesis de clorofila en algunas plantas. La carencia de cinc se caracteriza por la reducción del crecimiento de entrenudos y, como consecuencia de ello, se produce un patrón de crecimiento en roseta en el que las hojas forman un agrupamiento circular desde el nivel del suelo o cerca de él. Las hojas pueden ser pequeñas y deformadas, con apariencia arrugada en los bordes. Estos síntomas pueden ser el resultado de la pérdida de la capacidad de producir cantidades necesarias de ácido indolacético. Algunas especies (maíz, sorgo, guisante) presentan una clorosis entre los nervios de las hojas más viejas, seguida del desarrollo de unas manchas necróticas blancas. Esta clorosis puede ser la expresión de la necesidad de cinc para la biosíntesis de clorofilas.

COBRE. Como el hierro, el cobre está asociado a enzimas implicados en las reacciones redox, oxidándose de forma reversible de Cu^{+} a Cu^{2+}. Un ejemplo de un enzima de este tipo es la plastocianina, implicada en la transferencia electrónica durante la fase luminosa de la fotosíntesis (Haehnel 1984). El síntoma inicial de la carencia de cobre es la producción de hojas de color verde oscuro, que pueden contener manchas necróticas. Las manchas necróticas aparecen primero en los extremos de las hojas jóvenes y se extienden hacia la base a lo largo de los márgenes de las hojas. Las hojas también pueden estar curvadas o malformadas. En condiciones extremas de carencia de cobre se puede producir una pérdida prematura de hojas (abscisión foliar).

NÍQUEL. La ureasa es el único enzima conocido en las plantas superiores que contiene níquel, aunque los microorganismos fijadores de nitrógeno necesitan níquel para el enzima que reincorpora parte del hidrógeno gaseoso generado durante la fijación (el hidrogeno incorporado a la hidrogenasa) (véase el capítulo 12). Las plantas con carencia de níquel acumulan urea en sus hojas y, como consecuencia de ello, los extremos de las hojas muestran necrosis. Las plantas que crecen en suelo rara vez muestran signos de carencia de níquel, debido a que las cantidades de níquel requeridas son muy bajas.

MOLIBDENO. Los iones molibdeno (de Mo^{4+} a Mo^{6+}) son componentes de numerosos enzimas, como la nitrato reductasa y la nitrogenasa. La nitrato reductasa cataliza la reducción de nitrato a nitrito durante su asimilación en la célula vegetal; la nitrogenasa transforma el nitrógeno gaseoso en amoníaco en los organismos fijadores de nitrógeno (véase el capítulo 12). El primer síntoma de la carencia de molibdeno es una clorosis general entre los nervios y la necrosis de las hojas más viejas. En algunas plantas, como coliflor o brócoli, las hojas pueden no presentar necrosis, pero aparecer curvadas y acabar muriendo (enfermedad conocida como cola de látigo). Se puede ver impedida la formación de la flor, o provocar su caída prematura.

Puesto que el molibdeno está implicado en la asimilación de nitrato y la fijación de nitrógeno, una carencia de molibdeno puede provocar una carencia de nitrógeno en la planta si la fuente primaria de nitrógeno es el nitrato o si la planta depende de la fijación simbiótica del nitrógeno. Aunque las plantas requieren sólo pequeñas cantidades de molibdeno, algunos suelos no tienen cantidades adecuadas. La adición de pequeñas cantidades de molibdeno a esos suelos mejora notablemente el crecimiento de los cultivos y pastos a un coste mínimo.

El análisis de tejidos vegetales revela carencias minerales

Las necesidades de minerales cambian a lo largo del crecimiento y el desarrollo de una planta. En cultivos vegetales, los niveles nutricionales en diferentes estados de crecimiento influyen en el rendimiento de las partes de la planta que son económicamente importantes (tubérculos, grano, etc.). Para optimizar los rendimientos, los agricultores utilizan el análisis de nutrientes en el suelo y en los tejidos vegetales para determinar los programas de fertilización.

El **análisis del suelo** es la determinación química del contenido de un nutriente en una muestra de suelo de la zona de la raíz. Como analizaremos más adelante en el capítulo, la química y la biología de los suelos son complejas y los resultados de los análisis varían según los métodos de muestreo, las condiciones de almacenamiento de las muestras y las técnicas de extracción de los nutrientes. Lo más importante es

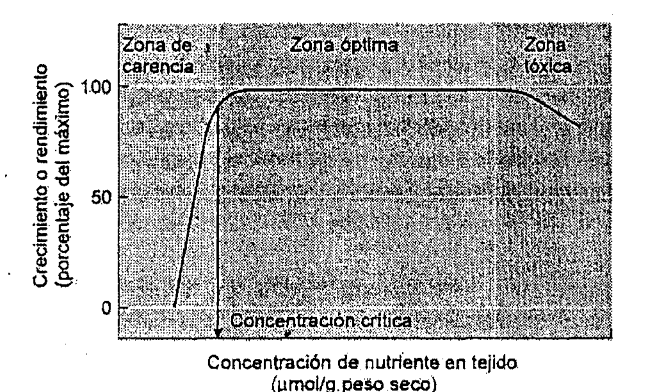


Figura 5.3 Relación entre el rendimiento (o crecimiento) y el contenido de un nutriente en un tejido vegetal. El parámetro de rendimiento puede expresarse en términos de peso seco de los brotes o altura. En la gráfica se indican las zonas de carencia, óptima y tóxica. Para obtener datos de este tipo, se cultivan las plantas en condiciones en las que se varía la concentración de un nutriente, mientras todos los demás se aportan en la cantidad necesaria. El efecto de la variación de la concentración de este nutriente durante el crecimiento vegetal se refleja en el crecimiento o rendimiento. La concentración crítica para ese nutriente se obtiene determinando la concentración por debajo de la cual que se produce una reducción del rendimiento o crecimiento.

que el análisis de un suelo determinado refleje los niveles de nutrientes *potencialmente* disponibles para las raíces de la planta. Sin embargo, dicho análisis no nos informa acerca de la cantidad de nutrientes que es necesario incorporar a la planta en ese momento o de la capacidad de ésta para absorberlas. Para obtener esta información es necesario realizar el análisis de los tejidos vegetales.

Un uso adecuado del **análisis de los tejidos vegetales** implica una comprensión de la relación entre el crecimiento de la planta (o rendimiento) y la concentración mineral de las muestras de tejidos vegetales (Bouma 1983). Como muestran los datos de la figura 5.3, cuando la concentración del nutriente en una muestra de tejido es baja, el crecimiento se reduce. En esta **zona de carencia** de la curva, un aumento en la disponibilidad del nutriente está directamente relacionado con un aumento del crecimiento o la producción. A medida que se incrementa la disponibilidad del nutriente, el crecimiento aumenta hasta alcanzar un punto en el que la adición del nutriente deja de provocar el aumento del crecimiento o del rendimiento, aunque se aprecia un incremento en la concentración en el tejido. Esta región de la curva se denomina **zona óptima**.

La transición entre la zona de carencia y la zona óptima se denomina **concentración crítica** del nutriente (véase la figura 5.3), y puede definirse como el contenido mínimo de un nutriente en un tejido que tiene relación directa con el crecimiento o la producción máxima. A medida que el contenido de nutriente en el tejido sobrepasa la

zona de crecimiento adecuado, el crecimiento o el rendimiento se reducen debido a la toxicidad (esta es la **zona tóxica**).

Para evaluar la relación entre el crecimiento y el contenido de un nutriente en un tejido, los investigadores cultivan las plantas en suelos o en soluciones nutritivas donde todos los nutrientes, excepto el que se está estudiando, están presentes en cantidades adecuadas. Al inicio del experimento, este nutriente limitante se añade a concentraciones crecientes a diferentes grupos de plantas y las concentraciones del nutriente en tejidos específicos se correlacionan con medidas concretas de crecimiento o de rendimiento. Se establecen varias curvas por elemento, una para cada tejido y edad.

Como los suelos agrícolas suelen tener concentraciones limitadas de nitrógeno, fósforo y potasio, muchos agricultores utilizan de forma rutinaria, como mínimo, curvas para estos elementos. Así, si se sospecha una carencia de un nutriente, se puede corregir antes de que afecte al crecimiento o a la producción. El análisis vegetal ha sido muy útil en el desarrollo de los programas de fertilización para mantener la producción y asegurar la buena calidad de muchos cultivos.

EL TRATAMIENTO DE LAS CARENCIAS NUTRICIONALES

Muchos métodos de cultivo tradicionales y de subsistencia promueven el reciclado de los nutrientes minerales. Los cultivos vegetales absorben los nutrientes del suelo, los seres humanos y los animales consumen los cultivos vegetales de la zona, y los residuos de los seres humanos y los animales, con frecuencia devuelven los nutrientes al suelo en forma de abono. La principal pérdida de nutrientes de estos sistemas agrícolas es debida a la lixiviación, que arrastra los iones disueltos en el agua de drenaje. En suelos ácidos, el lixiviado puede reducirse añadiendo calizas (una mezcla de CaO, $CaCO_3$ y $Ca(OH)_2$) para hacer el suelo más alcalino, ya que muchos elementos minerales forman complejos menos solubles cuando el pH es superior a 6 (Figura 5.4).

En los sistemas modernos de alta producción agrícola de los países industrializados, la eliminación unidireccional de los nutrientes del suelo por parte de los cultivos puede llegar a ser significativa a causa de que una gran proporción de biomasa del cultivo abandona la zona de cultivo. Las plantas sintetizan todos sus componentes a partir de sustancias inorgánicas básicas y de la luz del sol, por eso es tan importante restablecer todos los nutrientes minerales que han sido eliminados del suelo, mediante la adición de fertilizantes.

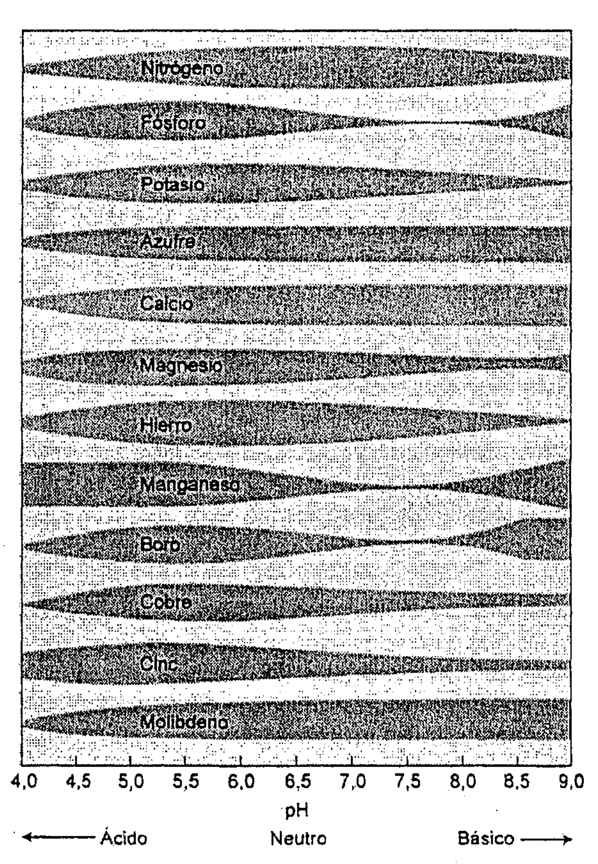


Figura 5.4 Influencia del pH del suelo en la disponibilidad de elementos nutrientes en suelos orgánicos. El grosor de las áreas sombreadas indica el grado de disponibilidad de nutrientes para la raíz vegetal. Todos estos nutrientes están disponibles en el rango de pH de 5,5 a 6,5. (Según Lucas y Davis 1961).

El rendimiento de los cultivos puede mejorarse por adición de fertilizantes químicos u orgánicos

La mayoría de los fertilizantes químicos contienen sales de los macronutrientes nitrógeno, fósforo y potasio (véase la tabla 5.1). Los fertilizantes que contienen sólo uno de estos tres nutrientes se denominan **fertilizantes simples**. Algunos ejemplos de fertilizantes simples son superfosfato, nitrato amónico y muriato de potasa (una fuente de potasio). Los fertilizantes que contienen dos o más de estos nutrientes minerales se denominan **fertilizantes compuestos** o **fertilizantes mixtos** y los números que se encuentran en las etiquetas de los embalajes, como 10-14-10, hacen

referencia a los porcentajes efectivos de N, P_2O_5 y K_2O, respectivamente, en el fertilizante.

Con la producción agrícola a largo plazo, el consumo de micronutrientes puede alcanzar un punto en el que también deban ser añadidos al suelo como fertilizantes. La adición de micronutrientes al suelo puede ser necesaria para corregir una carencia preexistente. Por ejemplo, en los Estados Unidos, algunos suelos presentan carencias de boro, cobre, cinc, manganeso, molibdeno o hierro (Mengel y Kirby 1987) y pueden beneficiarse del aporte suplementario de nutrientes.

Los fertilizantes químicos pueden aplicarse al suelo para modificar el pH del suelo. Tal y como se muestra en la figura 5.4, el pH del suelo afecta a la disponibilidad de todos los nutrientes minerales. La adición de cal, como mencionamos anteriormente, puede aumentar el pH de suelos ácidos; la adición de azufre elemental puede hacer disminuir el pH de suelos alcalinos; en este caso, los microorganismos absorben azufre y, a continuación, liberan sulfato y protones, que acidifican el suelo.

Los **fertilizantes orgánicos**, a diferencia de los fertilizantes químicos, se originan de los residuos animales y vegetales o de los depósitos naturales de roca. Los residuos animales y vegetales contienen muchos de los elementos nutrientes en forma de compuestos orgánicos. Antes de ser incorporados a los cultivos vegetales, los compuestos orgánicos deben liberarse, normalmente por la acción de microorganismos del suelo a través de un proceso llamado **mineralización**. La mineralización depende de la disponibilidad de muchos factores, como la temperatura, el agua y el oxígeno, y del tipo y número de microorganismos presentes en el suelo.

Por ello, la velocidad de mineralización varía mucho y los nutrientes obtenidos a partir de esos residuos orgánicos pueden estar disponibles para las plantas después de períodos que varían desde días a meses o años. Esta lenta velocidad de mineralización dificulta el uso eficiente de los fertilizantes, por lo que las explotaciones que dependen únicamente de fertilizantes orgánicos pueden necesitar la adición de más nitrógeno y fósforo y sufrir incluso mayores pérdidas de nutrientes que las explotaciones que utilizan fertilizantes químicos. Los residuos de los fertilizantes orgánicos mejoran la estructura física de la mayoría de los suelos, ya que mejoran la retención del agua en períodos de sequía e incrementan el drenaje en climas húmedos.

Algunos nutrientes minerales pueden ser absorbidos por las hojas

Además de los nutrientes minerales añadidos al suelo como fertilizantes, algunos nutrientes minerales pueden ser aplicados a las hojas por rociado, en un proceso conocido como **aplicación foliar**, y las hojas pueden absorber los nutrientes aplicados. En algunos casos, este método puede tener ventajas agronómicas respecto de la aplicación de nutrientes al suelo. La aplicación foliar puede reducir el tiempo de demora

entre la aplicación del nutriente y su incorporación a la planta, que podría ser importante durante una fase de crecimiento rápido. También puede evitar el problema de la reducción de la absorción de un nutriente del suelo. Por ejemplo, la aplicación foliar de nutrientes minerales como el hierro, el manganeso y el cobre puede ser más efectiva que su aplicación a través del suelo, donde dichos nutrientes son adsorbidos por las partículas del suelo y están menos disponibles para el sistema radical.

La absorción de nutrientes por las hojas de las plantas es más efectiva cuando la solución de nutrientes permanece en las hojas como una fina película (Mengel y Kirby 1987). Para obtener esta fina película con frecuencia es necesario suplementar las soluciones nutritivas con surfactantes químicos, como el detergente Tween 80, que reduce la tensión superficial. El movimiento del nutriente en la planta parece implicar la difusión a través de la cutícula y la absorción por las células de la hoja. Aunque la incorporación a través del poro estomático podría proporcionar una ruta de entrada a la hoja, la arquitectura del poro (véanse las figuras 4.13 y 4.14) evita la penetración del líquido (Ziegler 1987).

Para que la aplicación foliar tenga éxito, se debe evitar el daño a las hojas. Si la solución se aplica en un día caluroso, cuando la evaporación es alta, las sales se pueden acumular en la superficie de la hoja y provocar una quemadura. La aplicación en días fríos o por la noche ayuda a evitar este problema. La adición de cal a la solución reduce la solubilidad de muchos nutrientes y limita su toxicidad. La aplicación foliar ha resultado ser muy beneficiosa económicamente en cultivos de árboles y trepadoras, como la parra, pero también se emplea en cereales. Los nutrientes aplicados a las hojas podrían salvar un huerto o viñedo cuando los nutrientes aplicados al suelo son demasiado lentos como para corregir una carencia. En trigo, la aplicación foliar de nitrógeno durante los últimos estadios del crecimiento aumenta el contenido proteico de la semilla.

SUELO, RAÍCES Y MICROBIOS

El suelo es un sustrato físico, químico y biológico complejo. Se trata de un material heterogéneo que contiene una fase sólida, una fase líquida y una fase gaseosa (véase el capítulo 4). Todas ellas interaccionan con los elementos minerales. Las partículas inorgánicas de la fase sólida actúan como reserva de potasio, calcio, magnesio y hierro. También se encuentran asociados a esta fase sólida algunos compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, fósforo y azufre, entre otros elementos. La fase líquida del suelo constituye la solución del suelo, que contiene iones minerales disueltos y actúa como un medio para el movimiento de iones hacia la superficie radical. Los gases como el oxígeno, el dióxido de carbono y el nitrógeno están disueltos en la solución del suelo, pero en las raíces, los gases son intercambiados principalmente a través de los espacios aéreos que existen entre las partículas del suelo.

Desde una perspectiva biológica, el suelo constituye un ecosistema diverso en el que las raíces y los microorganismos compiten por los nutrientes minerales. A pesar de esta competencia, las raíces y los microorganismos pueden formar alianzas con beneficios para ambas especies (**simbiosis**). En esta sección analizaremos la importancia de las propiedades del suelo, la estructura radical y las relaciones simbióticas, micorrizas, para la nutrición mineral de las plantas. En el capítulo 12 estudiaremos las relaciones simbióticas con las bacterias fijadoras del nitrógeno

Las cargas negativas de las partículas del suelo afectan a la adsorción de nutrientes minerales

Las partículas del suelo, tanto inorgánicas como orgánicas, tienen predominantemente cargas negativas en sus superficies. Muchas partículas inorgánicas del suelo son redes cristalinas que consisten en reordenamientos tetraédricos de las formas catiónicas de aluminio y silicio (Al^{3+} y Si^{4+}) unidos a átomos de oxígeno para formar aluminatos y silicatos. Cuando cationes de menos carga sustituyen al Al^{3+} y al Si^{4+}, las partículas inorgánicas del suelo quedan cargadas negativamente.

Las partículas orgánicas del suelo se originan a partir de productos de descomposición de animales, plantas y microorganismos muertos. Las cargas negativas de la superficie de las partículas orgánicas resultan de la disociación de protones de los ácidos carboxílicos y de los grupos fenólicos presentes en los componentes del suelo. La mayoría de las partículas de los suelos en todo el mundo son, no obstante, inorgánicas.

Los suelos inorgánicos se clasifican atendiendo al tamaño de sus partículas:

- Las gravas tienen partículas con tamaños superiores a los 2 mm.
- Las arenas gruesas tienen partículas de entre 0,2 y 2 mm.

TABLA 5.5
Comparación de las propiedades de los tres tipos principales de arcillas silícicas encontradas en el suelo

	Tipo de arcilla		
Propiedad	Montmorilonita	Ilita	Caolinita
Tamaño (µm)	0,01-1,0	0,1-0,2	0,1-5,0
Forma	Escamas irregulares	Escamas irregulares	Cristales hexagonales
Cohesión	Alta	Media	Baja
Capacidad de retención del agua	Alta	Media	Baja
Capacidad de intercambio catiónico (miliequivalentes 100 g^{-1})	80-100	15-40	3-15

Fuente: Brady 1974.

- Las arenas finas tienen partículas de entre 0,02 y 0,2 mm.
- El sedimento (limo) tiene partículas de entre 0,002 y 0,02 mm
- Las arcillas tienen partículas menores de 0,002 mm (véase la tabla 4.1).

Los materiales arcillosos que contienen silicatos se clasifican en tres grupos (caolinita, ilita y montmorilonita) según las diferencias estructurales y físicas (Tabla 5.5). El grupo de la caolinita se encuentra principalmente en suelos erosionados, mientras que los grupos de la montmorilonita y la ilita se encuentran en suelos menos erosionados.

Los cationes minerales como el amonio (NH_4^+) y el potasio (K^+) son adsorbidos a las cargas negativas de la superficie de las partículas orgánicas e inorgánicas del suelo. Esta adsorción de cationes es un factor importante para la fertilidad del suelo. Los cationes minerales adsorbidos en la superficie de las partículas del suelo no se pierden fácilmente por lixiviación y proporcionan una reserva de nutrientes para las raíces de la planta. Los nutrientes minerales adsorbidos de esta manera pueden ser reemplazados por otros cationes en un proceso denominado **intercambio catiónico** (Fig. 5.5). El grado con el que el suelo puede adsorber e intercambiar iones se conoce como *capacidad de intercambio catiónico* (CEC) y depende en gran medida del tipo de suelo. Un suelo con una elevada capacidad de intercambio catiónico generalmente aporta más minerales a las raíces.

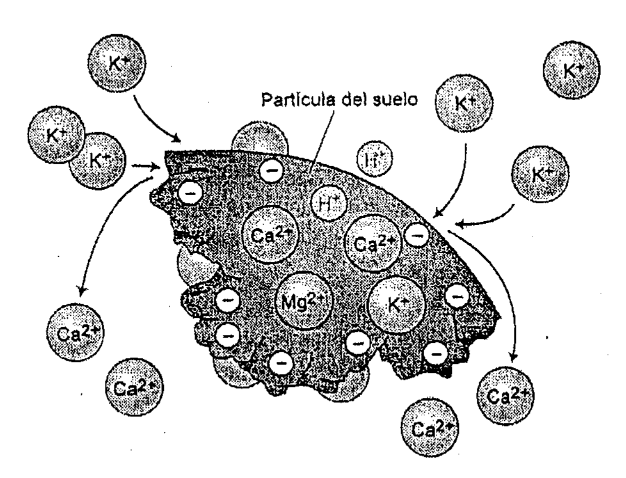


Figura 5.5 El principio del intercambio catiónico en la superficie de una partícula del suelo. Los cationes están unidos a la superficie de las partículas del suelo porque ésta está cargada negativamente. La adición de un catión como el potasio (K^+) puede desplazar a otro catión como el calcio (Ca^{2+}) de su unión a la superficie de la partícula del suelo y permite que sea incorporado por la raíz.

Los aniones minerales como el nitrato (NO_3^-) y el cloruro (Cl^-) normalmente son repelidos por las cargas negativas de las partículas del suelo y permanecen disueltos en la solución del suelo. Así, la capacidad de intercambio aniónico de la mayoría de los suelos agrícolas es pequeña en comparación con su capacidad de intercambio catiónico. Entre los aniones, el nitrato permanece móvil en la solución del suelo, donde es susceptible de ser eliminado por lixiviación.

Los iones fosfato ($H_2PO_4^-$) son capaces de unirse a las partículas del suelo que contienen aluminio o hierro, ya que los iones de aluminio y hierro positivamente cargados tienen grupos hidroxilo (OH^-) que pueden ser intercambiados con el fosfato. Como consecuencia de ello, el fosfato se une fuertemente y su movilidad y disponibilidad puede limitar el crecimiento vegetal.

El sulfato (SO_4^{2-}) en presencia de calcio (Ca^{2+}) forma yeso ($CaSO_4$). El yeso sólo es ligeramente soluble, pero libera suficiente sulfato como para mantener el crecimiento vegetal. La mayoría de los suelos no ácidos contienen cantidades importantes de calcio; por ello, la movilidad del sulfato en estos suelos es baja, de manera que no es muy susceptible de ser eliminado por lixiviación.

El pH del suelo afecta a la disponibilidad de nutrientes, a los microbios del suelo y al crecimiento de las raíces

Otra propiedad importante de los suelos es su concentración de protones (pH), porque afecta al crecimiento de las raíces vegetales y a los microorganismos del suelo. El crecimiento radical se ve favorecido en suelos ligeramente ácidos, con valores de pH entre 5,5 y 6,5. Generalmente los hongos predominan en los suelos ácidos, mientras que las bacterias prevalecen en suelos básicos. El pH del suelo también determina la disponibilidad de los nutrientes vegetales (véase la figura 5.4). La acidez favorece la erosión de las rocas, que liberan K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} y Mn^{2+}, y aumenta la solubilidad de carbonatos, sulfatos y fosfatos. El aumento de la solubilidad de los nutrientes facilita su disponibilidad para las raíces.

Los principales factores que reducen el pH del suelo son los niveles de lluvia y la descomposición de la materia orgánica. El dióxido de carbono producido como consecuencia de la descomposición de la materia orgánica se equilibra con el agua del suelo, según la siguiente reacción:

$$CO_2 + H_2O \Leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

Esta reacción libera protones (H^+) y reduce el pH del suelo. La descomposición microbiana de material orgánico también produce amoniaco y sulfuro de hidrógeno, que pueden ser oxidados en el suelo a las formas ácidas fuertes, ácido nítrico (HNO_3)

y ácido sulfúrico (H_2SO_4), respectivamente. Los protones también desplazan a los iones K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} y Mn^{2+}, del complejo por intercambio catiónico con el suelo. El lixiviado puede eliminar estos iones de las capas superiores del suelo, lo que deja suelos aún más ácidos. Por el contrario, la erosión de la roca en regiones áridas libera K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} y Mn^{2+} al suelo, pero debido a las escasas lluvias, estos iones no son eliminados de las capas superiores del suelo y el suelo continúa siendo alcalino.

El exceso de minerales en el suelo limita el crecimiento vegetal

Cuando hay un exceso de minerales en el suelo, se dice de éste que es salino y el crecimiento vegetal puede verse reducido si estos iones minerales alcanzan niveles que limitan la disponibilidad de agua o exceden la zona óptima para un nutriente determinado (véase el capítulo 25). El cloruro sódico y el sulfato sódico son las sales más comunes en los suelos salinos. Un exceso de minerales en el suelo puede llegar a ser un grave problema para una región árida o semiárida, ya que las precipitaciones son insuficientes para lixiviar los iones minerales de las capas superiores del suelo, cerca de la superficie. La irrigación promueve la salinización del suelo si no se aplica suficiente agua para lixiviar las sales por debajo de la zona radical. Además, el agua de irrigación puede contener entre 100 y 1000 g de sales por metro cúbico. Un cultivo requiere por término medio unos 2000 metros cúbicos por hectárea. En consecuencia, se añaden al suelo de 400 a 4000 kilogramos de minerales al suelo por cultivo (Marschner 1995).

En suelos salinos, las plantas padecen **estrés salino**. Mientras muchas plantas pueden verse severamente afectadas por la presencia de niveles relativamente bajos de sales en el suelo, otras pueden sobrevivir con altos niveles (**plantas tolerantes a la sal**) o incluso crecer (**halófitas**) en tales condiciones. Los mecanismos por los cuales las plantas toleran la salinidad son complejos (véase el capítulo 25), e implican síntesis molecular, inducción enzimática y transporte de membrana. En algunas especies, los excesos de minerales no se incorporan; en otras, se produce la absorción, pero el exceso de sal es excretado desde la planta por glándulas salinas asociadas a las hojas. Para evitar concentraciones tóxicas de sales en el citosol, muchas plantas pueden secuestrar estos iones en las vacuolas (Stewart y Ahmad 1983). Se están llevando a cabo muchos esfuerzos dirigidos a proporcionar tolerancia a la sal a cultivos de especies sensibles a la sal, empleando tanto métodos tradicionales de cruzamiento como la biología molecular (Hasegawa y col. 2000).

Otro problema importante relacionado con el exceso de minerales es la acumulación de metales pesados en el suelo, que pueden provocar una toxicidad grave tanto en las plantas como en los humanos (véase el **ensayo web 5.1**). Los metales pesados incluyen cinc, cobre, cobalto, níquel, mercurio, plomo, cadmio, plata y cromo (Berry y Wallace 1981).

Las plantas desarrollan un extenso sistema radical

La capacidad de las plantas para absorber agua y nutrientes minerales del suelo está relacionada con su capacidad para desarrollar un extenso sistema radical. A finales de la década de 1930, H. J. Dittmer examinó el sistema radical de una planta de centeno que había crecido durante 16 semanas y estimó que la planta tenía 13×10^6 ejes radicales centrales y laterales, que se extendían más de 500 km dispuestos linealmente y ocupaban un área de 200 m^2 (Dittmer 1937). Esta planta tenía más de 10^{10} pelos radicales, que ocupaban un área de 300 m^2.

En el desierto, las raíces del mesquite, del género *Prosopis*, pueden llegar a los 50 m de profundidad para buscar agua. Las plantas de los cultivos anuales suelen tener raíces que crecen entre 0,1 y 2,0 m de profundidad y se extienden lateralmente distancias de entre 0,3 a 1,0 m. En viveros, los principales sistemas radicales de los árboles plantados separados entre sí 1 m alcanzan una longitud total de 12 a 18 km por árbol. La producción anual de raíces en los ecosistemas naturales puede sobrepasar ampliamente la de los tallos, por lo que se puede decir que las partes aéreas de las plantas representan sólo «la punta del iceberg».

Las raíces vegetales pueden crecer continuamente durante todo el año. No obstante, su proliferación depende de la disponibilidad de agua y minerales en el microentorno inmediato que rodea a la raíz, llamado **rizosfera**. Si la rizosfera es pobre en nutrientes o demasiado seca, el crecimiento radical es lento. A medida que mejoran las condiciones de la rizosfera, aumenta el crecimiento radical. Si la fertilización y la irrigación proporcionan suficiente agua y nutrientes, el crecimiento radical es similar al crecimiento de los tallos. En tales condiciones, el crecimiento vegetal está limitado por los carbohidratos, y un sistema radical relativamente pequeño es capaz de aportar los nutrientes que necesita toda la planta (Bloom y col. 1993). El crecimiento radical bajo la superficie del suelo se estudia mediante técnicas especiales (véase el **tema web 5.2**).

Los sistemas radicales difieren en su forma, pero están basados en estructuras comunes

La *forma* del sistema radical depende mucho de las especies vegetales. En monocotiledóneas, el desarrollo de la raíz se inicia con la salida de tres a seis **ejes radicales primarios** (o seminales) desde la semilla en germinación. Con el crecimiento posterior, se formarán nuevas **raíces nodales** o **adventicias**. Con el tiempo, los ejes radicales primarios y nodales crecen y se ramifican extensamente formando un complejo sistema fibroso de raíces (Figura 5.6). En el sistema fibroso de raíces, éstas tienen generalmente el mismo diámetro (excepto donde las condiciones ambientales o

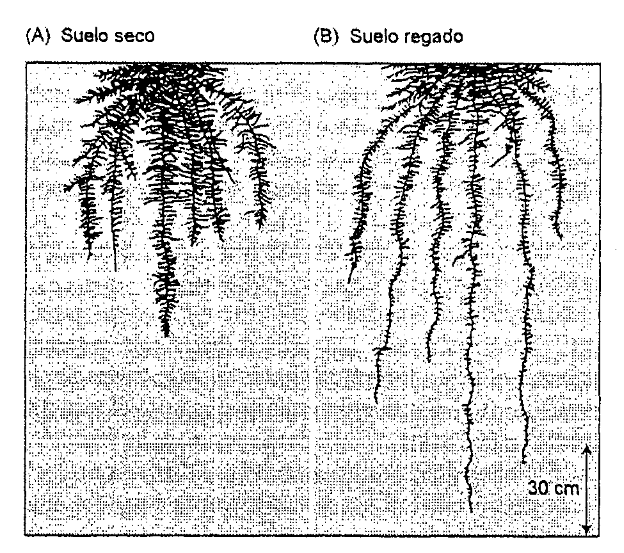


Figura 5.6 Sistema radical fibroso de una planta de trigo (monocotiledónea). (A) El sistema radical de una planta de trigo madura (3 meses) creciendo en un suelo seco. (B) El sistema radical de una planta de trigo cultivada en un suelo regado. Es evidente que la morfología del sistema radical se ve afectada por la cantidad de agua presente en el suelo. En un sistema radical fibroso, los ejes principales de la raíz son indistinguibles. (Adaptado de Weaver 1926).

las interacciones patogénicas modifican la estructura radical), de manera que es difícil distinguir el eje radical principal.

En dicotiledóneas, el sistema radical se desarrolla a lo largo de un único eje radical, llamado **raíz pivotante**, que puede engrosar como resultado de una actividad cambial secundaria. Desde este eje radical principal, se desarrollan las raíces laterales para formar un extenso sistema de raíces ramificadas (Figura 5.7).

El desarrollo del sistema radical tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas depende de la actividad del meristemo apical radical y de la producción de los meristemos laterales. En la figura 5.8 se muestra un diagrama generalizado de la región apical de una raíz, y se identifican las tres zonas de actividad: meristemática, de elongación y de maduración.

En la **zona meristemática**, las células se dividen tanto en la dirección de la base de la raíz para formar células que se diferenciarán en tejidos de la raíz funcional, como en dirección del ápice para formar la **cofia, caliptra o pilorriza**. La cofia protege a las delicadas células meristemáticas a medida que la raíz se mueve a través del suelo. También secreta un material gelatinoso conocido como *mucigel*, que rodea el ápice de la raíz. La función precisa del mucigel es incierta, pero se ha sugerido que podría lubricar la penetración de la raíz a través del suelo, proteger el ápice radical

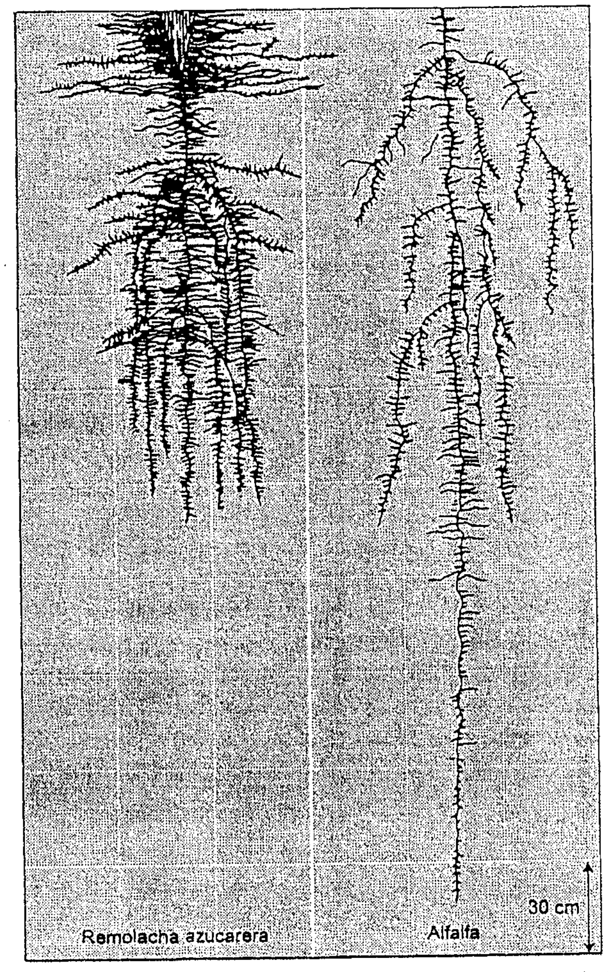


Figura 5.7 Sistema radical de dos dicotiledóneas adecuadamente regadas, la remolacha azucarera y la alfalfa. El sistema radical de la remolacha azucarera es típico de una planta de 5 meses, mientras que el de la alfalfa es el típico de 2 años de crecimiento. En ambas dicotiledóneas, el sistema radical muestra un eje vertical principal. En el caso de la remolacha azucarera, la parte superior de la raíz pivotante es más gruesa debido a su función de tejido de reserva. (Adaptado de Weaver 1926).

de la desecación, promover la transferencia de nutrientes a la raíz o afectar a la interacción entre las raíces y los microorganismos del suelo (Rusell 1977). La cofia también juega un papel fundamental en la percepción de la gravedad, la señal que dirige el crecimiento de las raíces hacia abajo. Este proceso se conoce como **respuesta gravitrópica** (véase el capítulo 19).

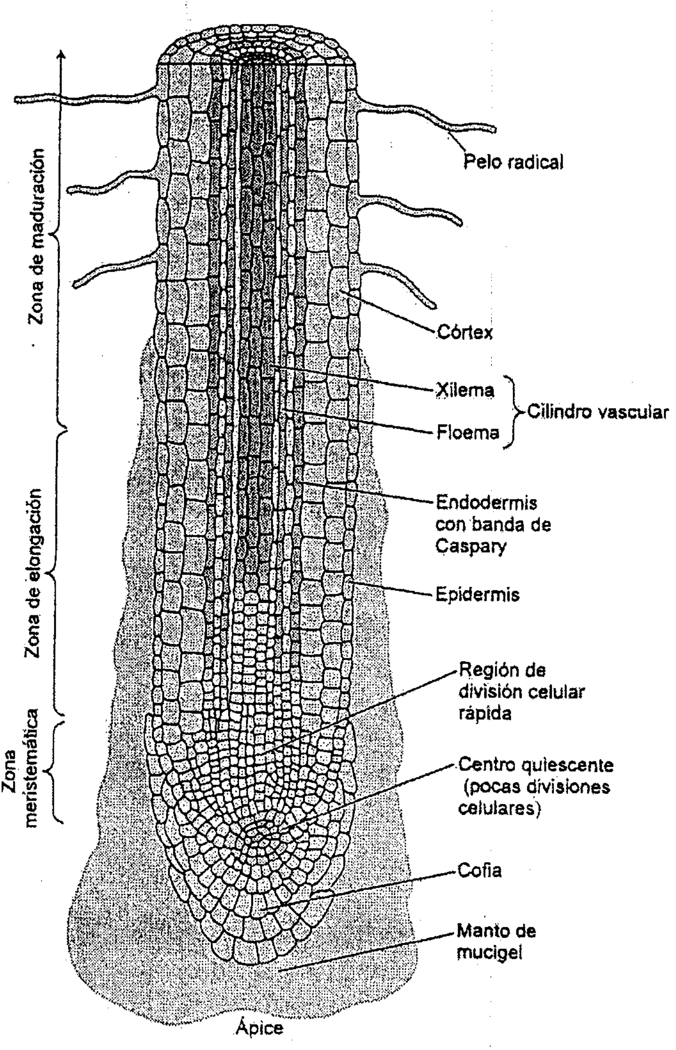


Figura 5.8 Esquema de una sección longitudinal de la región apical de la raíz. Las células meristemáticas están localizadas cerca del ápice de la raíz. Estas células generan la cofia radical y los tejidos superiores de la raíz. En la zona de elongación, las células se diferencian para formar el xilema, el floema y el córtex. Los pelos radicales, formados en células epidérmicas, aparecen primero en la zona de maduración.

La división celular en el ápice radical propiamente dicho es relativamente lenta; de ahí que esa región se denomine **centro quiescente**. Tras varias generaciones de divisiones celulares, las células radicales desplazadas 0,1 mm desde el ápice empiezan

a dividirse más rápidamente. La división celular comienza de nuevo a 0,4 mm del ápice y las células se expanden en todas direcciones por igual.

La **zona de elongación** empieza entre 0,7 y 1,5 mm del ápice (véase la figura 5.8). En esta zona las células se elongan rápidamente y sufren una serie final de divisiones para formar un anillo central de células llamado **endodermis**. Las paredes de esta capa de células endodérmicas están engrosadas y tienen depósitos de suberina (véase el capítulo 13) que se depositan radialmente en las paredes, formando la **banda de Caspary**, una estructura hidrofóbica que impide el movimiento del agua o los solutos a través de la raíz (véase la figura 4.3). La endodermis, divide la raíz en dos regiones: el **córtex** hacia el exterior y el **cilindro vascular** o **estela** hacia el interior. El cilindro vascular contiene los elementos vasculares de la raíz: el **floema**, que transporta los metabolitos desde el tallo a la raíz, y el **xilema**, que se encarga de conducir el agua y los solutos hacia el tallo.

El floema se desarrolla más rápidamente que el xilema, dado que el floema tiene una función crítica en las proximidades del ápice radical. Para mantener la división y elongación celular deben fluir, a través del floema, grandes cantidades de carbohidratos hacia las zonas de crecimiento apical. Los carbohidratos proporcionan a las células en rápido crecimiento una fuente de energía y las estructuras de carbono necesarias para la síntesis de compuestos orgánicos. Los azúcares de seis carbonos (hexosas) también funcionan como solutos osmóticamente activos en el tejido radical. En el ápice radical, donde el floema aún no está desarrollado, el movimiento de los carbohidratos depende de la difusión simplástica, y es relativamente lento (Bret-Harte y Silk 1994). Las bajas tasas de división celular en el centro quiescente pueden ser debidas a un insuficiente aporte de carbohidratos en esta región central o a que esta área permanece en un estado oxidado (véase el **ensayo web 5.2**).

Los pelos radicales, con sus grandes áreas superficiales para la absorción de agua y solutos, aparecen en la **zona de maduración** (véase la figura 5.8) y es aquí donde el xilema desarrolla la capacidad de transportar grandes cantidades de agua y solutos al tallo.

Diferentes zonas de la raíz absorben diferentes iones minerales

El punto exacto de entrada de minerales en el sistema radical es un tema que ha suscitado gran interés. Algunos investigadores han afirmado que la absorción de nutrientes tiene lugar únicamente por la región apical de los ejes principales o secundarios (Bar-Yosef y col. 1972); mientras que otros creen que la absorción tiene lugar por toda la superficie de la raíz (Nye y Tinker 1977). Existen evidencias experimentales que apoyan ambas posibilidades, según la especie vegetal y el nutriente que se investigue:

- En cebada, la absorción de calcio parece estar restringida a la región apical.
- La absorción de hierro tiene lugar bien por la región apical, como en la cebada (Clarkson 1985), o bien por toda la superficie radical, como en el maíz (Kashirad y col. 1973).
- El potasio, el fosfato, el nitrato y el amonio pueden ser absorbidos libremente por toda la superficie de la raíz (Clarkson 1985), pero en maíz las velocidades más altas de acumulación de potasio (Sharp y col. 1990) y de absorción de nitrato (Taylor y Bloom 1998) tienen lugar en la zona de elongación.
- En maíz y arroz, el ápice radical absorbe el amonio más rápidamente que la zona de elongación (Colmer y Bloom 1998).
- En varias especies, los pelos radicales son los más activos en la absorción de fosfato (Fohse y col. 1991).

Las altas tasas de absorción de nutrientes en las zonas del ápice radical son el resultado de la gran demanda de nutrientes en estos tejidos y de la relativamente alta disponibilidad de nutrientes en el suelo que les rodea. Por ejemplo, la elongación celular depende de la acumulación de solutos como el potasio, el cloruro y el nitrato para aumentar la presión osmótica en el interior de la célula (véase el capítulo 15). El amonio es la principal fuente de nitrógeno para mantener la división celular en el meristemo, debido a que los tejidos meristemáticos suelen tener un aporte limitado de carbohidratos y la asimilación de amonio consume menos energía que la de nitrato (véase el capítulo 12). El ápice radical y los pelos radicales crecen en suelos donde los nutrientes todavía no se han agotado.

En el suelo, el movimiento de los nutrientes a la superficie radical puede producirse por flujo de masas y por difusión (véase el capítulo 3). En el flujo de masas, los nutrientes son transportados por el movimiento del agua a través del suelo hacia la raíz. La cantidad de nutrientes proporcionada por el flujo de masas depende de la tasa de flujo de agua a través del suelo hacia la planta, que depende a su vez de la tasa de transpiración y de la cantidad de nutrientes en la solución del suelo. El flujo de masas puede jugar un papel muy importante en el aporte de nutrientes cuando la tasa de flujo de agua y las concentraciones de nutrientes en la solución del suelo son altas.

En la difusión, los nutrientes minerales se mueven desde una región de alta concentración a una región de menor concentración. La absorción de nutrientes por las raíces reduce la concentración de éstos en la superficie radical, lo que genera gradientes de concentración en la solución del suelo que rodea la raíz. La difusión de nutrientes a favor de gradiente de concentración y el flujo de masas resultante de la transpiración pueden aumentar la disponibilidad de nutrientes en la superficie radical.

Cuando la absorción de nutrientes por la raíz es alta y la concentración de nutrientes en el suelo es baja, el flujo de masas puede aportar sólo una pequeña fracción de las necesidades totales de nutrientes (Mengel y Kirby 1987). En estas condiciones, las tasas de difusión limitan el movimiento de los nutrientes a la superficie radical. Cuando la difusión es demasiado lenta como para mantener una concentración de nutrientes alta en las proximidades de la raíz, se forma una **zona de agotamiento de nutrientes** en el área próxima a la superficie radical (Figura 5.9). Esta zona de agotamiento de nutrientes se extiende de 0,2 a 2,0 mm desde la superficie radical, según la movilidad del nutriente en el suelo.

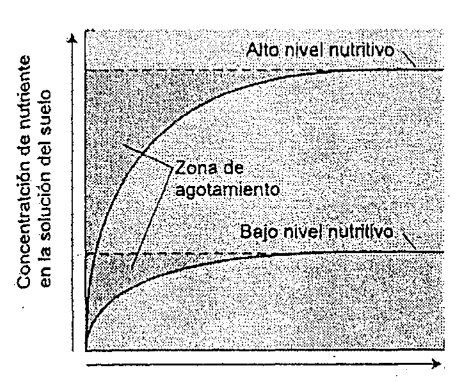


Figura 5.9 Formación de una zona de agotamiento de nutrientes en la región del suelo adyacente a la raíz vegetal. Se forma una zona de agotamiento de nutrientes cuando la velocidad de incorporación de un nutriente por las células de la raíz es superior a la velocidad de reemplazamiento del nutriente por difusión en la solución del suelo. Este agotamiento provoca un descenso localizado de la concentración de nutriente en la zona adyacente a la superficie radical. (Según Mengel y Kirkby 1987).

La formación de una zona de agotamiento nos desvela cosas importantes acerca de la nutrición mineral: debido a que las raíces reducen el aporte mineral en la rizosfera, su efectividad desde el punto de vista de los minerales no se determina simplemente por su tasa de absorción de nutrientes de la solución del suelo, sino también por su crecimiento continuo. *Sin crecimiento, las raíces reducirían rápidamente los nutrientes del suelo adyacente a su superficie. Por tanto, la absorción óptima de nutrientes, depende tanto de la capacidad de absorción de nutrientes como de la capacidad del sistema radical de crecer hacia suelos nuevos.*

Los hongos micorrízicos facilitan la absorción de nutrientes por las raíces

Hasta ahora, nuestro análisis ha estado centrado en la adquisición directa de minerales a través de las raíces, pero es importante remarcar que este proceso puede ser modificado por la asociación de hongos micorrízicos con el sistema radical. La presencia de **micorrizas** (de las palabras griegas que significan «hongo» y «raíz») es habitual; de hecho, están muy extendidas en condiciones naturales. Una gran cantidad de la vegetación mundial tiene raíces asociadas con hongos micorrízicos: el 83 % de las dicotiledóneas, el 79 % de las monocotiledóneas y todas las gimnospermas forman asociaciones micrornízicas regularmente (Wilcox 1991).

Por otro lado, las plantas de las familias *Cruciferae* (repollo), *Chenopodiaceae* (espinaca) y *Proteaceae* (nueces de macadamia), así como las plantas acuáticas, ra-

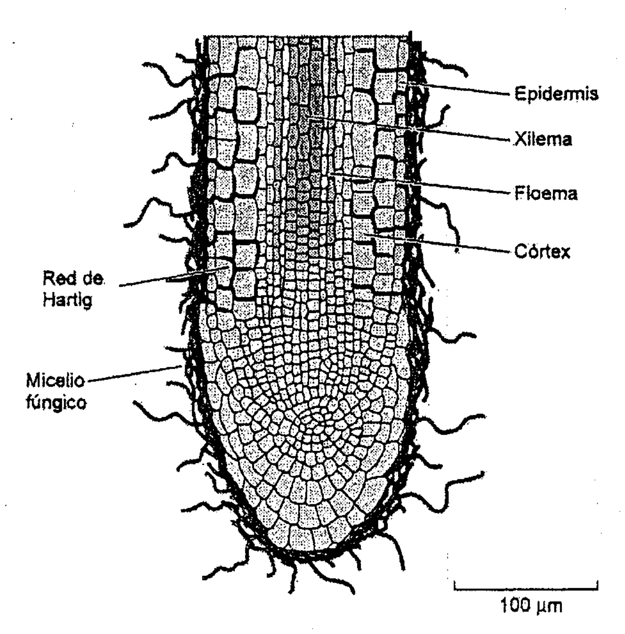


Figura 5.10 Una raíz infectada con hongos ectotróficos micorrízicos. En la raíz infectada, las hifas de los hongos rodean la raíz para producir un denso micelio fúngico y penetrar en los espacios intercelulares del córtex para formar la red de Hartig. La masa total de las hifas del hongo es comparable a la masa de la raíz. (Según Rovira y col. 1983).

ra vez tienen micorrizas. Las micorrizas están ausentes en las raíces de suelos muy secos, salinos o encharcados, o donde la fertilidad del suelo es extrema, tanto alta como baja. En concreto, las plantas cultivadas en sistemas de cultivos hidropónicos y plantas jóvenes de crecimiento rápido, raramente tienen micorrizas.

Los hongos micorrízicos están formados por filamentos tubulares finos llamados *hifas*. La masa de hifas que forma el cuerpo del hongo se denomina *micelio*. Hay dos clases principales de hongos micorrízicos: los ectotróficos que dan lugar a las **ectomicorrizas**, y los endotróficos que dan lugar a las **endomicorrizas**, de las cuales, las micorrizas vesículo-arbusculares (VA) son las más abundantes (Smith y col. 1997). Otras clases menores de hongos micorrízicos son los de las familias ericaceae y orchideaceae, cuya importancia es limitada en la absorción de nutrientes.

Los **hongos micorrízicos ectotróficos** muestran una gruesa vaina o «manto» de micelio fúngico alrededor de las raíces, y parte de éste penetra entre las células corticales (Figura 5.10). Las hifas fúngicas no penetran en las células corticales en sí, sino que forman a su alrededor una red llamada **red de Hartig**. Con frecuencia la cantidad de micelio fúngico es tan grande que su masa total se puede comparar con la de las propias raíces. El micelio fúngico también se extiende en el suelo, lejos de su compacto manto, donde forma rizoformas de hifas o cadenas de hifas que contienen cuerpos fructíferos.

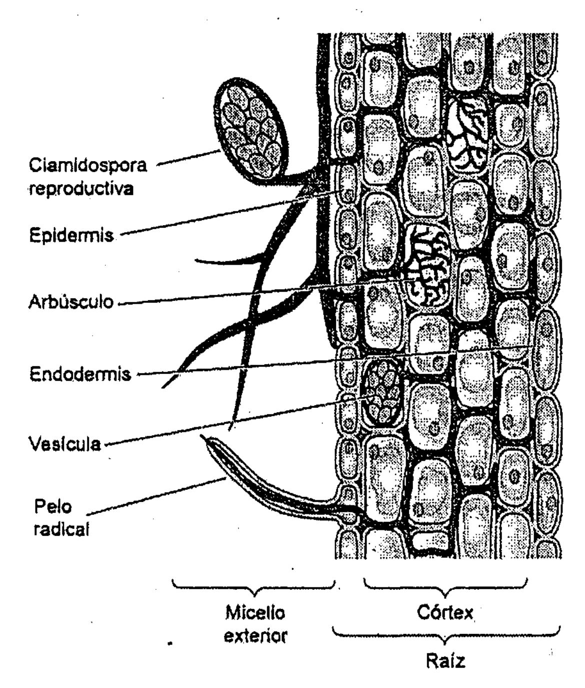


Figura 5.11 Asociación de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares con una sección de una raíz vegetal. Las hifas de los hongos crecen en los espacios intercelulares de las paredes del córtex y penetran en las células corticales. A medida que se extienden en la célula, no rompen la membrana plasmática o el tonoplasto de la célula huésped. En lugar de eso, la hifa es rodeada por esas membranas y forma unas estructuras conocidas como arbúsculos, que participan en el intercambio iónico de nutrientes entre la planta huésped y el hongo. (Según Mauseth 1988).

La capacidad del sistema radical para absorber los nutrientes mejora por la presencia de las hifas fúngicas externas que son mucho más delgadas que las raíces y pueden llegar más allá de las áreas agotadas del suelo cercano a las raíces (Clarkson 1985). Los hongos micorrízicos ectotróficos infectan exclusivamente a especies arbóreas y arbustos, incluidas las gimnospermas y las angiospermas leñosas.

A diferencia de los hongos micorrízicos ectotróficos, los hongos **micorrízicos vesículo-arbusculares** no producen un manto compacto de micelio fúngico alrededor de la raíz. En cambio, las hifas crecen con una ordenación menos densa en la raíz y se extienden tanto hacia la propia raíz como hacia el exterior, desde la raíz hacia el suelo que la rodea (Figura 5.11). Después de entrar en la raíz, ya sea a través de la epidermis o a través de los pelos radicales, las hifas no sólo se extienden a través de

las regiones entre las células, sino que además penetran en las células individuales del córtex. En las células, las hifas pueden formar estructuras ovales llamadas **vesículas** y unas estructuras ramificadas llamadas **arbúsculos**. Los arbúsculos parecen ser los sitios de transferencia de nutrientes entre los hongos y la planta huésped.

En el exterior de la raíz, el micelio exterior se puede extender a varios centímetros de distancia de la raíz y puede tener estructuras que contienen esporas. A diferencia de las micorrizas ectotróficas, las micorrizas vesículo-arbusculares forman una pequeña masa de material fúngico, que difícilmente excede del 10 % del peso de la raíz. Las micorrizas vesículo-arbusculares se encuentran presentes en la mayoría de las especies de angiospermas herbáceas (Smith y col. 1997).

La asociación con las micorrizas vesículo-arbusculares facilita la incorporación de fósforo y de trazas de metales como el cinc y el cobre a las raíces vegetales. El micelio exterior mejora la absorción de fósforo, al extenderse más allá de la zona alrededor de la raíz donde el fósforo está agotado. Los cálculos muestran que una raíz asociada con hongos micorrízicos también puede transportar fosfato a una velocidad cuatro veces superior que la de una raíz que no lo esté (Nye y Tinker 1977). El micelio exterior de los hongos micorrízicos ectotróficos puede absorber el fosfato y hacerlo disponible para la planta. Además, se ha sugerido que las micorrizas ectotróficas proliferan en los desechos orgánicos del suelo e hidrolizan el fósforo orgánico para transferirlo a la planta (Smith y col. 1997).

Los nutrientes pueden moverse desde los hongos micorrízicos a las células radicales

Poco se sabe acerca del mecanismo por el que los nutrientes minerales son absorbidos por los hongos micorrízicos y son transferidos a las células de las raíces vegetales. En las micorrizas ectotróficas, el fosfato inorgánico simplemente difunde desde la hifa de la red Hartig y es absorbido por las células corticales de la raíz. En las micorrizas vesículo-arbusculares, la situación puede ser mucho más compleja. Los nutrientes pueden difundir desde los arbúsculos intactos a las células corticales de la raíz. Alternativamente, como continuamente se degeneran algunos arbúsculos radicales a la vez que se forman otros nuevos, los arbúsculos degenerativos podrían liberar su contenido en la célula radical huésped.

Un factor clave en la extensión de la infección de micorrizas es el estado nutricional de la planta huésped. La carencia moderada de un nutriente como el fósforo tiende a promover la infección, mientras las plantas con suficientes nutrientes tienden a suprimir la infección micorrízica.

La asociación micorrízica en un suelo bien fertilizado puede variar desde relaciones simbióticas a parásitas en las que el hongo puede obtener carbohidratos de la célula huésped, pero la planta huésped no obtiene ningún beneficio para mejorar la eficiencia de la absorción de nutrientes. En esas condiciones, la planta huésped puede tratar al hongo micorrízico como si fuera un patógeno (Brundrett 1991; Marschner 1995).

RESUMEN

Las plantas son organismos autotróficos capaces de emplear la energía de la luz del sol para sintetizar todos sus componentes a partir de dióxido de carbono, agua y elementos minerales. Estudios de nutrición vegetal han mostrado que hay elementos específicos que son esenciales para la vida de la planta. Estos nutrientes se clasifican como macronutrientes o micronutrientes, en función de las cantidades relativas encontradas en el tejido vegetal.

En las plantas superiores, ciertos síntomas visuales son diagnósticos de la carencia de un nutriente específico. Los desórdenes nutricionales se producen porque los nutrientes tienen funciones claves en el metabolismo vegetal. Forman parte de compuestos orgánicos, actúan en el almacenamiento de energía, en la formación de estructuras vegetales, como cofactores de enzimas y en las reacciones de transferencia de energía. La nutrición mineral se puede estudiar utilizando cultivos hidropónicos y aeropónicos que permiten la caracterización de las necesidades específicas de cada nutriente. El análisis del suelo y del tejido vegetal puede proporcionar información sobre el estado nutricional del sistema suelo-planta y sugerir acciones correctivas para evitar carencias o toxicidades.

Cuando los cultivos vegetales se realizan en las condiciones modernas de alta producción, el suelo pierde grandes cantidades de nutrientes del suelo. Para evitar el desarrollo de carencias, los nutrientes pueden añadirse al suelo en forma de fertilizantes. Los fertilizantes que proporcionan los nutrientes en forma inorgánica se denominan fertilizantes químicos; los que derivan de residuos vegetales o animales se consideran fertilizantes orgánicos. En ambos casos, las plantas absorben los nutrientes principalmente como iones inorgánicos. La mayoría de los fertilizantes se aplican al suelo, pero algunos se aplican por pulverización sobre las hojas.

El suelo es un sustrato complejo física, química y biológicamente. El tamaño de las partículas y la capacidad de intercambio catiónico del suelo determinan el grado en que el suelo puede ser un reservorio de agua y nutrientes. El pH del suelo también influye en la disponibilidad de los elementos minerales para la planta.

Si los elementos minerales, especialmente sodio o metales pesados, se encuentran presentes en el suelo en exceso, el crecimiento vegetal puede verse seriamente afectado. Ciertas plantas son capaces de tolerar un exceso de elementos minerales, y unas pocas especies, como las halófitas en el caso del sodio, pueden crecer en estas condiciones extremas.

Para obtener los nutrientes minerales del suelo, las plantas desarrollan un extenso sistema radical. Las raíces tienen una estructura relativamente simple con simetría radial y tipos de células poco diferenciadas. Las raíces agotan continuamente los nutrientes del suelo a su alrededor y esa estructura simple permite el crecimiento rápido en suelos nuevos.

Con frecuencia las raíces vegetales establecen asociaciones con hongos micorrízicos para formar las micorrizas. Las finas hifas de las micorrizas aumentan el alcance de las raíces en el suelo circundante y facilita la adquisición de elementos minerales, sobre todo aquéllos que, como el fósforo, son relativamente inmóviles en el suelo. En contrapartida, las plantas proporcionan carbohidratos a los hongos micorrízicos. Las plantas tienden a suprimir las asociaciones micorrízicas en condiciones de alta disponibilidad de nutrientes.

Material web

TEMAS WEB

5.1 Síntomas de las carencias de los minerales esenciales
Los síntomas de la carencia son característicos de cada elemento esencial y se pueden por ello utilizar para diagnosticar la carencia. Las fotografías en color ilustran los síntomas de las carencias para cada elemento esencial en tomate.

5.2 Observación de las raíces bajo el suelo
El estudio de las raíces en crecimiento en condiciones naturales requiere instrumentos para observar las raíces bajo el suelo. En este ensayo se describen las técnicas actuales.

ENSAYOS WEB

5.1 Cómo llegan los metales a los alimentos
La acumulación de metales pesados en las plantas es tóxica. La comprensión de los procesos moleculares implicados ayuda a desarrollar mejores cultivos para la fitorremediación.

5.2 El control redox del centro quiescente de la raíz
El estado redox del centro quiescente parece controlar el ciclo celular de estas células.

Referencias del capítulo

Arnon D. I. y Stout P. R. (1939) The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiol.* 14: 371–375.

Asher C. J. y Edwards D. G. (1983) Modern solution culture techniques. En *Inorganic Plant Nutrition* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 15B), A. Läuchli and R. L. Bieleski, eds., Springer, Berlin, págs. 94–119.

Bar-Yosef B., Kafkafi U. y Bresler E. (1972) Uptake of phosphorus by plants growing under field conditions. I. Theoretical model and experimental determination of its parameters. *Soil Sci.* 36: 783–800.

Berry W. L. y Wallace A. (1981) Toxicity: The concept and relationship to the dose response curve. *J. Plant Nutr.* 3: 13–19.

Bloom A. J. (1994) Crop acquisition of ammonium and nitrate. En *Physiology and Determination of Crop Yield*, K. J. Boote, J. M. Bennett, T. R. Sinclair y G. M. Paulsen, eds., Soil Science Society of America, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Madison, WI, págs. 303–309.

Bloom A. J., Jackson L. E. y Smart D. R. (1993) Root growth as a function of ammonium and nitrate in the root zone. *Plant Cell Environ.* 16: 199–206.

Bouma D. (1983) Diagnosis of mineral deficiencies using plant tests. En *Inorganic Plant Nutrition* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 15B), A. Läuchli y R. L. Bieleski, eds., Springer, Berlin, págs. 120–146.

Brady N. C. (1974) *The Nature and Properties of Soils*, 8ª ed. Macmillan, New York.

Bret-Harte M. S. y Silk W. K. (1994) Nonvascular, symplasmic diffusion of sucrose cannot satisfy the carbon demands of growth in the primary root tip of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 105: 19–33.

Brundrett M. C. (1991) Mycorrhizas in natural ecosystems. *Adv. Ecol. Res.* 21: 171–313.

Clarke S. M. y Eaton-Rye J. J. (2000) Amino acid deletions in loop C of the chlorophyll a-binding protein CP47 alter the chloride requirement and/or prevent the assembly of photosystem II. *Plant Mol. Biol.* 44: 591–601.

Clarkson D. T. (1985) Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36: 77–116.

Colmer T. D. y Bloom A. J. (1998) A comparison of net NH_4^+ and NO_3^- fluxes along roots of rice and maize. *Plant Cell Environ.* 21: 240–246.

Cooper A. (1979) *The ABC of NFT: Nutrient Film Technique: The World's First Method of Crop Production without a Solid Rooting Medium.* Grower Books, London.

Dittmer H. J. (1937) A quantitative study of the roots and root hairs of a winter rye plant (*Secale cereale*). *Am. J. Bot.* 24: 417–420.

Epstein E. (1972) *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. Wiley, New York.

Epstein E. (1999) Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 641–664.
Evans H. J. y Sorger G. J. (1966) Role of mineral elements with emphasis on the univalent cations. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 17: 47–76.
Foehse D., Claassen N. y Jungk A. (1991) Phosphorus efficiency of plants. II. Significance of root radius, root hairs and cation-anion balance for phosphorus influx in seven plant species. *Plant Soil* 132: 261–272.
Gericke W. F. (1937) Hydroponics—Crop production in liquid culture media. *Science* 85: 177–178.
Haehnel W. (1984) Photosynthetic electron transport in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 659–693.
Harling H., Czaja I., Schell J. y Walden R. (1997) A plant cation-chloride co-transporter promoting auxin-independent tobacco protoplast division. *EMBO J.* 16: 5855–5866.
Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J.-K. y Bohnert H. J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 463–499.
Hepler P. K. y Wayne R. O. (1985) Calcium and plant development. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36: 397–440.
Johnstone M., Grof C. P. L. y Brownell P. F. (1988) The effect of sodium nutrition on the pool sizes of intermediates of the C_4 photosynthetic pathway. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 749–760.
Kashirad A., Marschner H. y Richter C. H. (1973) Absorption and translocation of ^{59}Fe from various parts of the corn plant. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 134: 136–147.
Loomis R. S. y Connor D. J. (1992) *Crop Ecology: Productivity and Management in Agricultural Systems.* Cambridge University Press, Cambridge.
Lucas R. E. y Davis J. F. (1961) Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Sci.* 92: 177–182.
Macek T., Mackova M. y Kas J. (2000) Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotech. Adv.* 18: 23–34.
Marschner H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2ª ed. Academic Press, London.
Mauseth J. D. (1988) *Plant Anatomy.* Benjamin/Cummings Pub. Co., Menlo Park, CA.
Mengel K. y Kirkby E. A. (1987) *Principles of Plant Nutrition.* International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland.
Nolan B. T. and Stoner J. D. (2000) Nutrients in groundwater of the center conterminous United States 1992-1995. *Environ. Sci. Tech.* 34: 1156–1165.
Nye P. H. y Tinker P. B. (1977) *Solute Movement in the Soil-Root System.* University of California Press, Berkeley.
Oh S.-H., Cho S.-W., Kwon T.-H. y Yang M.-S. (1996) Purification and characterization of phytoferritin. *J. Biochem. Mol. Biol.* 29: 540–544.

Raven J. A. y Smith F. A. (1976) Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol.* 76: 415–431.
Rovira A. D., Bowen C. D. y Foster R. C. (1983) The significance of rhizosphere microflora and mycorrhizas in plant nutrition. En *Inorganic Plant Nutrition* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 15B) A. Läuchli y R. L. Bieleskis, eds., Springer, Berlin, págs. 61–93.
Russell R. S. (1977) *Plant Root Systems: Their Function and Interaction with the Soil.* McGraw-Hill, London.
Sanders D., Brownlee C. y Harper J. F. (1999) Communicating with calcium. *Plant Cell* 11: 691–706.
Sharp R. E., Hsiao T. C. y Silk W. K. (1990) Growth of the maize primary root at low water potentials. 2. Role of growth and deposition of hexose and potassium in osmotic adjustment. *Plant Physiol.* 93: 1337–1346.
Shelp B. J. (1993) Physiology and biochemistry of boron in plants. En *Boron and Its Role in Crop Production*, U. C. Gupta, ed., CRC Press, Boca Raton, FL, págs. 53–85.
Sievers R. E. y Bailar J. C., Jr. (1962) Some metal chelates of ethylenediaminetetraacetic acid, diethylenetriaminepentaacetic acid, and triethylenetriaminehexaacctic acid. *Inorganic Chem.* 1: 174–182.
Smith S. E., Read D. J. y Harley J. L. (1997) *Mycorrhizal Symbiosis.* Academic Press, San Diego, CA.
Stewart G. R. y Ahmad I. (1983) Adaptation to salinity in angiosperm halophytes. En *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*, D. A. Robb y W. S. Pierpoint, eds., Academic Press, New York, págs. 33–50.
Taylor A. R. y Bloom A. J. (1998) Ammonium, nitrate and proton fluxes along the maize root. *Plant Cell Environ.* 21: 1255–1263.
Weathers P. J. y Zobel R. W. (1992) Aeroponics for the culture of organisms, tissues, and cells. *Biotech. Adv.* 10: 93–115.
Weaver J. E. (1926) *Root Development of Field Crops.* McGraw-Hill, New York.
Wilcox H. E. (1991) Mycorrhizae. En *Plant Roots: The Hidden Half*, Y. Waisel, A. Eshel y U. Kafkafi, eds., Marcel Dekker, New York, págs. 731–765.
Ziegler H. (1987) The evolution of stomata. En *Stomatal Function*, E. Zeiger, G. Farquhar e I. Cowan, eds., Stanford University Press, Stanford, CA, págs. 29–57.

Capítulo 6

TRANSPORTE DE SOLUTOS

LAS PLANTAS ESTÁN SEPARADAS de su entorno por una membrana plasmática que tiene un grosor de sólo dos moléculas de lípido. Esta fina capa separa un medio interno relativamente constante de un medio exterior muy variable. Además de formar una barrera hidrofóbica a la difusión, la membrana debe facilitar y regular continuamente el tráfico de entrada y salida de moléculas seleccionadas e iones cuando la célula incorpora nutrientes, exporta residuos y regula su presión de turgencia. Esto mismo es válido para las membranas internas que separan los distintos compartimentos en el interior de cada célula.

Dado que la célula está en contacto con su entorno a través de la membrana plasmática, ésta debe aportarle información sobre el entorno físico, sobre las señales moleculares de otras células y sobre la presencia de patógenos invasores. Con frecuencia estos procesos de transducción de señales están mediados por cambios en el flujo de iones a través de la membrana.

El movimiento iónico y molecular de un lugar a otro se conoce como **transporte**. El transporte local de solutos al interior de la célula o entre células está regulado principalmente por las membranas. El transporte a larga distancia entre la planta y su entorno, o entre las hojas y las raíces, también está controlado por el transporte a través de la membrana a nivel celular. Por ejemplo, el transporte de sacarosa desde las hojas a la raíz a través del floema está dirigido y regulado por el transporte a través de la membrana a las células del floema de la hoja y desde el floema a las células de almacenamiento en las raíces (véase el capítulo 10).

En este capítulo consideraremos primero los principios físicos y químicos que definen el movimiento de las moléculas en una solución. Entonces aplicaremos estos principios a las membranas y sistemas biológicos. También analizaremos los mecanismos moleculares del transporte en las células vivas y la gran variedad de proteínas de transporte que son responsables de las propiedades específicas del transporte en células vegetales. Finalmente, examinaremos las rutas de incorporación de iones a través de las raíces, así como los mecanismos de carga del xilema, proceso en el que

los iones son liberados a los elementos de los vasos y las traqueidas del cilindro vascular.

TRANSPORTE ACTIVO Y PASIVO

De acuerdo con la primera Ley de Fick (véase la ecuación 3.1), el movimiento de moléculas por difusión siempre se produce espontáneamente, a favor de un gradiente de concentración o potencial químico (véase el capítulo 2 en la página web), hasta que se alcanza el equilibrio. El movimiento de moléculas a favor de gradiente se denomina **transporte pasivo**. En el equilibrio, no se produce movimiento neto de solutos, a menos que se le aplique una fuerza.

El movimiento de sustancias en contra de su gradiente de potencial químico (por ejemplo, a una concentración mayor) se denomina **transporte activo**. No es espontáneo y requiere que se realice un trabajo sobre el sistema mediante aporte de energía celular. Una forma (pero no la única) de realizarlo es acoplar el transporte a la hidrólisis de ATP.

Recordemos del capítulo 3 que podemos calcular la fuerza motora de la difusión, o a la inversa, la energía necesaria para mover una sustancia en contra de gradiente, midiendo el gradiente de energía potencial que, con frecuencia, es simple función de la diferencia de concentración. El transporte biológico puede estar impulsado por cuatro fuerzas principales: concentración, presión hidrostática, gravedad y campos eléctricos. (No obstante, recordemos del capítulo 3 que en los sistemas biológicos, la gravedad rara vez contribuye sustancialmente a la fuerza que provoca el transporte).

El **potencial químico** de un soluto se define como la suma de los potenciales de concentración, eléctrico e hidrostático (y el potencial químico en condiciones estándar):

$$\tilde{\mu}_j = \mu_j^* + RT \ln C_j + z_jFE + \bar{V}_jP \qquad (6.1)$$

$\tilde{\mu}_j$	μ_j^*	$RT \ln C_j$	z_jFE	$\bar{V}_jP$
Potencial químico de un soluto dado, j	Potencial químico de j en condiciones estándar	Componente de concentración (Actividad)	Componente de potencial eléctrico	Componente de presión hidrostática

donde es el potencial químico del soluto j y se expresa en julios por mol (J mol^{-1}), μ_j* es el potencial químico en condiciones estándar (un factor de corrección que se eliminará en posteriores ecuaciones, y por eso se ignora), R es la constante universal de los gases, T es la temperatura absoluta, y C_j es la concentración (más exactamente la actividad) de j.

El componente eléctrico, z_jFE, se aplica sólo a iones, siendo z la carga electrostática del ión (+1 para cationes monovalentes, –1 para aniones monovalentes, +2 para cationes divalentes, etc.), F es la constante de Faraday (equivalente a la carga eléctrica de un mol de protones) y E es el potencial eléctrico de la solución (respecto al de referencia). El término final, $\bar{V}_jP$ expresa la contribución del volumen molal parcial de j ($\bar{V}_j$) y la presión (P) al potencial químico de j. (El volumen molal parcial de j es el cambio en volumen por mol de sustancia j añadida al sistema, para una adición infinitesimal.)

Este término final, $\bar{V}_jP$, realiza una contribución mucho más pequeña a $\tilde{\mu}_j$ que los términos de concentración y eléctrico, excepto en el caso muy importante de los movimientos osmóticos de agua. Como analizamos en el capítulo 3, el potencial químico del agua (por ejemplo, el potencial hídrico) depende de la concentración de los solutos disueltos y de la presión hidrostática del sistema.

La importancia del concepto de potencial químico es que incluye la suma de todas las fuerzas que pueden actuar sobre una molécula para dirigir el transporte neto (Nobel 1991).

En general, la difusión (transporte pasivo) mueve siempre las moléculas desde zonas de mayor potencial químico a zonas de menor potencial químico. El movimiento en contra de gradiente de potencial químico es indicativo de un transporte activo (Figura 6.1).

Si consideramos la difusión de sacarosa a través de una membrana permeable como ejemplo, podemos obtener una aproximación muy precisa del potencial químico de la sacarosa en cada compartimento sólo con el componente de concentración (excepto si la solución está muy concentrada, lo que provocaría un aumento de la presión hidrostática). De la ecuación 6.1, se deduce que el potencial químico de la sacarosa en el interior de la célula puede describirse como sigue (en las siguientes tres ecuaciones, el subíndice s se refiere a la sacarosa y los superíndices i y e al interior y exterior, respectivamente):

$$\tilde{\mu}_s^{i} = \mu_s^* + RT \ln C_s^{i} \qquad (6.2)$$

$\tilde{\mu}_s^{i}$	μ_s^*	$RT \ln C_s^{i}$
Potencial químico de la solución de sacarosa en el interior de la célula estándar	Potencial químico de la solución de sacarosa en condiciones	Componente de concentración

El potencial químico de la solución de sacarosa en e exterior de la célula es:

$$\tilde{\mu}_s^{e} = \mu_s^* + RT \ln C_s^{e} \qquad (6.3)$$

Podemos calcular la diferencia del potencial químico de sacarosa entre las soluciones externa e interna de la célula ($\Delta\tilde{\mu}_s$), independientemente del mecanismo de transporte. Para asignar correctamente los signos, recordemos que en el transporte hacia el interior, la sacarosa es captada (–) del exterior de la célula, y añadida (+) al interior, de forma que el incremento de energía libre en julios por mol de sacarosa transportado será:

$$\Delta\tilde{\mu}_s = \tilde{\mu}_s^{\,i} - \tilde{\mu}_s^{\,e} \tag{6.4}$$

Sustituyendo los términos de las ecuaciones 6.2 y 6.3 en la ecuación 6.4, obtenemos que:

$$\begin{aligned}\Delta\tilde{\mu}_s &= (\mu_s^* + RT\ln C_s^{\,i}) - (\mu_s^* + RT\ln C_s^{\,e}) \\ &= RT\ln (C_s^{\,i} - C_s^{\,e}) \\ &= RT\ln \frac{C_s^{\,i}}{C_s^{\,e}}\end{aligned} \tag{6.5}$$

Si la diferencia en el potencial químico es negativa, la sacarosa podrá difundir espontáneamente hacia el interior (suponiendo que la membrana sea suficientemente permeable a la sacarosa; véase la sección siguiente). En otras palabras, la fuerza motriz ($\Delta\tilde{\mu}_s$) para la difusión del soluto es proporcional a la magnitud del gradiente de concentración ($C_s^{\,e}/C_s^{\,i}$).

Si el soluto tiene carga eléctrica (como en el caso del ión potasio), se debe considerar también el componente eléctrico del potencial químico. Supongamos que la membrana es más permeable a los iones K^+ y Cl^- que a la sacarosa. Como las especies iónicas (K^+ y Cl^-) difunden independientemente, cada una tiene su propio potencial químico. Así, para la difusión del K^+ hacia el interior:

$$\Delta\tilde{\mu}_K = \tilde{\mu}_K^{\,i} - \tilde{\mu}_K^{\,e} \tag{6.6}$$

Sustituyendo los términos adecuados de la ecuación 6.1 en la ecuación 6.6, obtenemos

$$\Delta\tilde{\mu}_K = (RT\ln [K^+]^i + zFE^i) - (RT\ln [K^+]^e + zFE^e) \tag{6.7}$$

como la carga electrostática de K^+ es +1, $z = +1$ y

$$\Delta\tilde{\mu}_K = (RT\ln \frac{[K^+]^i}{[K^+]^e} + F(E^i - E^e) \tag{6.8}$$

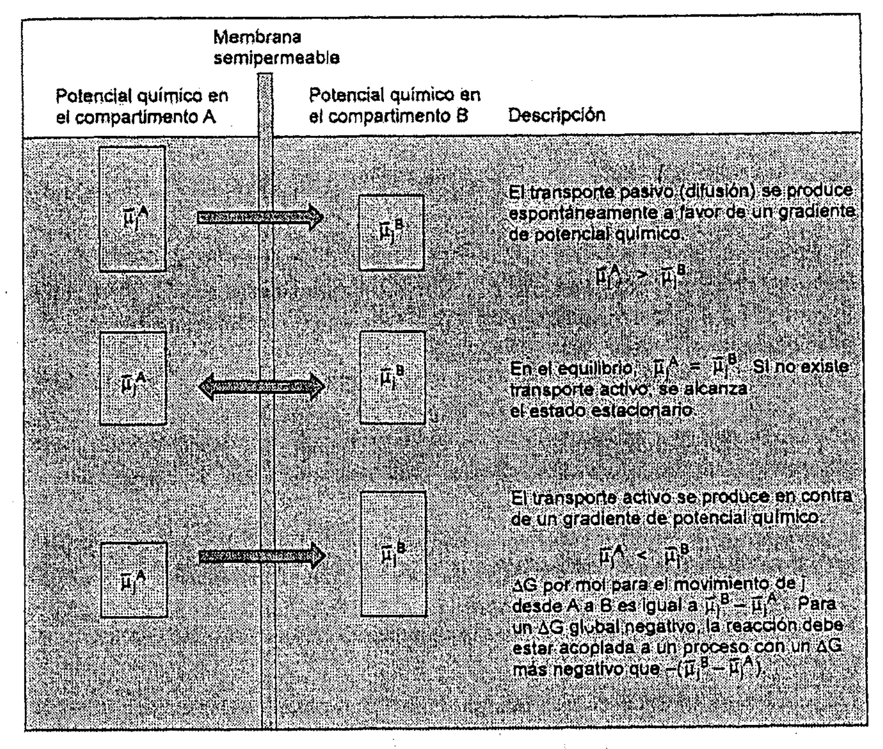


FIGURA 6.1 Relación entre el potencial químico, $\tilde{\mu}$, y el transporte de moléculas a través de una barrera permeable. El movimiento neto de las moléculas *j* entre los compartimentos A y B depende de la magnitud relativa del potencial químico de *j* en cada compartimento, representado aquí por el tamaño de los cuadros. El movimiento a favor de gradiente de potencial químico se produce espontáneamente y se denomina transporte pasivo; el movimiento en contra de gradiente requiere el aporte de energía y se denomina transporte activo.

La magnitud y el signo de la expresión indicarán la fuerza motora de la difusión del K^+ a través de la membrana y su sentido. Una expresión similar se puede obtener para el Cl^- (pero recordemos que para Cl^-, $z = -1$).

La ecuación 6.8 muestra que los iones, como el potasio, difunden tanto en respuesta a su gradiente de concentración ($[K^+]^i/[K^+]^e$) como a la diferencia de potencial eléctrico entre los dos compartimentos ($E^i - E^e$). Esto implica que los iones pueden ser conducidos pasivamente en contra de su gradiente de concentración si se aplica un voltaje adecuado (campo eléctrico) entre los dos compartimentos. Debido a la importancia del campo eléctrico en el transporte biológico, $\tilde{\mu}$ con frecuencia se llama **potencial electroquímico**, y $\Delta\tilde{\mu}$ es la diferencia de potencial electroquímico entre dos compartimentos.

TRANSPORTE DE IONES A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA

En el movimiento de K^+ y Cl^- entre dos compartimentos hay que tener en cuenta que están separados por una membrana biológica, que añade un factor al movimiento de iones. La **permeabilidad de la membrana** indica la facilidad con que una sustancia se mueve a su través. Como analizaremos más adelante, la permeabilidad depende de la composición de la membrana y de la naturaleza química del soluto. En un sentido amplio, la permeabilidad se puede expresar en términos de coeficiente de difusión del soluto en la membrana. Sin embargo, la permeabilidad depende de otros factores adicionales, como la capacidad de un soluto para penetrar en la membrana, que son difíciles de medir.

A pesar de la complejidad teórica, la permeabilidad puede ser medida determinando la tasa a la que un soluto atraviesa una membrana bajo unas condiciones específicas. Generalmente la membrana retrasará la difusión y reducirá la velocidad con la que se alcanza el equilibrio. La permeabilidad o resistencia de la membrana por sí misma, sin embargo, no puede alterar las condiciones finales de equilibrio. El equilibrio se produce cuando $\Delta\tilde{\mu}_j = 0$.

En las secciones siguientes analizaremos los factores que influyen en la distribución pasiva de iones a través de una membrana. Estos parámetros pueden utilizarse para predecir la relación entre el gradiente eléctrico y el gradiente de concentración de un ión.

Se desarrollan potenciales de difusión cuando iones de carga opuesta se mueven a través de la membrana a diferente velocidad

Cuando las sales difunden a través de una membrana, pueden generar un potencial eléctrico de membrana (voltaje). Consideremos que las dos soluciones de KCl están separadas por una membrana como ocurre en la figura 6.2. Los iones K^+ y Cl^- atravesarán la membrana independientemente, difundiendo a favor de sus respectivos gradientes de potencial electroquímico. Y, a menos que la membrana sea muy porosa, las permeabilidades de los dos iones serán diferentes.

Como consecuencia de estas permeabilidades diferentes, K^+ y Cl^- difundirán inicialmente a través de la membrana en proporciones diferentes. El resultado será una ligera separación de cargas, que generarán un potencial electroquímico a través de la membrana. En los sistemas biológicos, las membranas suelen ser más permeables al paso de K^+ que de Cl^-. Así pues, el K^+ difundirá desde la célula (compartimento A de la figura 6.2) más rápidamente que el Cl^-, provocando la aparición de un potencial eléctrico negativo con respecto al medio. El potencial de membrana que aparece como resultado de la difusión se denomina **potencial de difusión.**

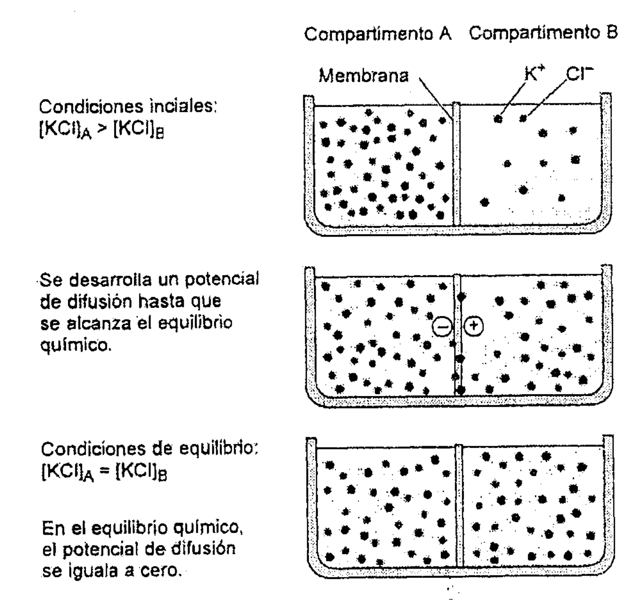


FIGURA 6.2 Desarrollo de un potencial de difusión y una separación de cargas entre dos compartimentos separados por una membrana que es preferentemente permeable al potasio. Si la concentración de cloruro potásico es mayor en el compartimento A ($[KCl]_A > [KCl]_B$), los iones potasio y cloruro difundirán a mayor velocidad hacia el compartimento B y se generará un potencial de difusión. Cuanto más permeables sean las membranas al potasio que al cloruro, más rápidamente difundirán los iones potasio que los iones cloruro, por lo que se generará una separación de cargas (+ y –).

Un principio importante que debemos tener presente cuando estudiamos el movimiento de iones a través de la membrana es el principio de la neutralidad eléctrica. Las soluciones siempre contienen el mismo número de aniones que de cationes. La existencia de un potencial de membrana implica que hay una distribución desigual de cargas a través de la membrana; no obstante, el número real de iones desequilibrados es despreciable en términos químicos. Por ejemplo, un potencial de membrana de –100 mV (milivoltios), como el que se encuentra en membranas plasmáticas de muchas células vegetales, es debido a la presencia de un único anión extra en el exterior de la célula por cada 100.000 en el interior de la célula, es decir, una diferencia de concentración de ¡sólo el 0,001%!

Como se observa en la figura 6.2, todos estos aniones extra se encuentran inmediatamente adyacentes a la superficie de la membrana; no hay ningún desequilibrio de carga en toda la masa celular. En nuestro ejemplo de difusión de KCl, la neutralidad eléctrica se mantiene porque, como el K^+ se mueve más rápidamente que el Cl^- a través de la membrana, el potencial de difusión resultante retarda el movimiento del K^+ y acelera el del Cl^-. Finalmente, ambos iones difunden en la misma proporción,

pero el potencial de difusión se mantiene y puede medirse. Cuando el sistema se aproxima al equilibrio, el gradiente de concentración desaparece y el potencial de difusión también.

La ecuación de Nernst relaciona el potencial de membrana con la distribución de un ión en condiciones de equilibrio

Como la membrana es permeable tanto a los iones K^+ como a los iones Cl^-, en el ejemplo anterior no se alcanzará el equilibrio para ningún ión hasta que los gradientes de concentraciones se reduzcan a cero. Sin embargo, si la membrana fuera permeable sólo a los iones K^+, la difusión de los iones K^+ transportaría cargas a través de la membrana hasta que el potencial de membrana equilibrara el gradiente de concentración. Dado que para producir un cambio en el potencial se requieren muy pocos iones, este equilibrio se alcanza casi instantáneamente. El transporte estaría entonces en equilibrio, incluso aunque el gradiente de concentraciones no hubiera cambiado.

Cuando la distribución de cualquier soluto a través de una membrana alcanza el equilibrio, el flujo pasivo, J (por ejemplo la cantidad de soluto que cruza una unidad de área de membrana por unidad de tiempo), es el mismo en ambas direcciones, desde el exterior al interior y desde el interior al exterior:

$$J_{e \to i} = J_{i \to e}$$

Los flujos están relacionados con $\Delta\tilde{\mu}$ (para un análisis sobre los flujos y $\Delta\tilde{\mu}$, véase el capítulo 2 en la página web); así, en el equilibrio, también serán iguales los potenciales electroquímicos:

$$\tilde{\mu}_j^e = \tilde{\mu}_j^i$$

y para un ión dado (el ión se simboliza con el subíndice j):

$$\mu_j^* + RT \ln c_j^e + z_j F E^e = \mu_j^* + RT \ln C_j^i + z_j F E^i \qquad (6.9)$$

Reordenando la ecuación 6.9, podemos calcular la diferencia de potencial eléctrico entre dos compartimentos ($E^i - E^e$),

$$E^i - E^e = \frac{RT}{z_j F} \ln \left(\frac{C_j^e}{C_j^i} \right)$$

Esta diferencia de potencial eléctrico se conoce como el **potencial de Nernst** (ΔE_j) para un ión:

$$\Delta E_j = E^i - E^o$$

y

$$\Delta E_j = \frac{RT}{z_j F} \ln \left(\frac{C_j^e}{C_j^i} \right)$$

o

$$\Delta E_j = \frac{2,3RT}{z_j F} \log \left(\frac{C_j^e}{C_j^i} \right)$$

Esta relación, conocida como la **ecuación de Nernst**, establece que en el equilibrio la diferencia de concentraciones de un ión entre dos compartimentos está equilibrada por la diferencia de voltaje entre los dos compartimentos. La ecuación de Nernst puede simplificarse para un ión monovalente a 25°C como:

$$\Delta E_j = 59\text{mV} \log \frac{C_j^e}{C_j^i} \qquad (6.5)$$

Hay que destacar que una diferencia en las concentraciones de diez veces corresponde a un potencial de Nernst de 59 mV ($C^e/C^i = 10/1$; log 10 = 1). Es decir, un potencial de membrana de 59 mV, mantendría un gradiente de concentración de diez veces de un ión que fuera transportado por difusión pasiva. Del mismo modo, si para un ión hay un gradiente de concentración de diez a través de la membrana, la difusión pasiva de ese ión a favor de su gradiente de concentración (si fuera posible para alcanzar el equilibrio) daría lugar a una diferencia de 59 mV a través de la membrana.

Todas las células vivas tienen un potencial de membrana debido a la distribución asimétrica de los iones entre el interior y el exterior de la célula. Estos potenciales de membrana pueden ser medidos insertando un microelectrodo en la célula y midiendo la diferencia de voltaje entre el interior de la célula y el medio externo (Figura 6.3).

La ecuación de Nernst puede ser empleada para determinar si un ión está en equilibrio a través de la membrana. Sin embargo, hay que hacer una distinción entre el equilibrio y el estado estacionario. El **estado estacionario** es la condición en la que la entrada y salida de un soluto dado son iguales y, por lo tanto, las concentraciones son constantes con el tiempo. El estado estacionario no es lo mismo que el equilibrio

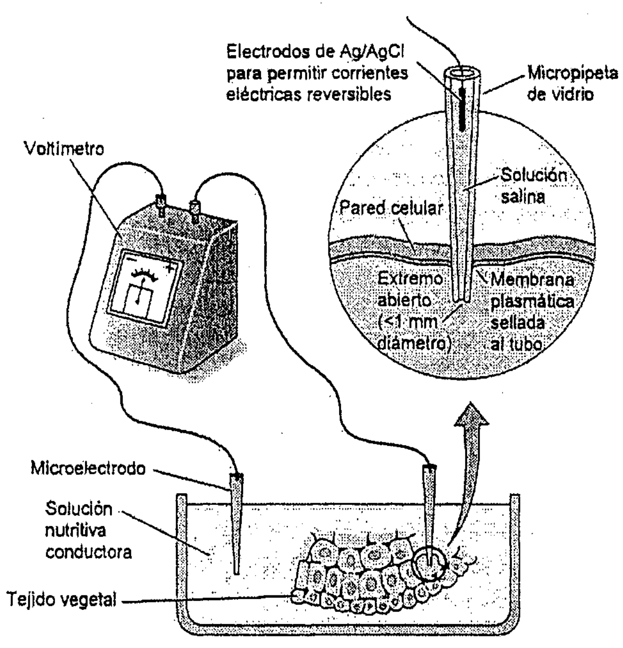


FIGURA 6.3. Diagrama de un par de microelectrodos empleados para medir potenciales de membrana a través de membranas celulares. Uno de los microelectrodos, que son micropipetas de vidrio, se inserta en el compartimento celular estudiado (normalmente la vacuola o el citoplasma), mientras que el otro se mantiene en una solución electrolítica de referencia. Los microelectrodos se conectan a un voltímetro que registra las diferencias de potencial eléctrico entre el compartimento celular y la solución. Los potenciales de membrana típicos a través de membranas celulares vegetales son del orden de −60 a −240 mV. La zona ampliada muestra cómo se produce el contacto eléctrico con el interior de la célula a través del extremo abierto de la micropipeta de vidrio, que contiene una solución salina conductora.

(véase la figura 6.1); en el estado estacionario, la existencia de un transporte activo a través de la membrana evita que los flujos difusivos alcancen el equilibrio.

La ecuación de Nernst puede emplearse para distinguir entre transporte activo y pasivo

La tabla 6.1 muestra las medidas experimentales de las concentraciones de iones en el estado estacionario de células radicales de guisante y los valores predichos calculados a partir de la ecuación de Nernst (Higinbotham y col. 1967). En este ejemplo, las concentraciones externas de cada ión en la solución externa al tejido y el potencial de membrana medido fueron sustituidas en la ecuación de Nernst, y se calculó la concentración interna para ese ión.

Se puede observar que de todos los iones de la tabla 6.1, sólo el K^+ está en el equilibrio o próximo a él. Todos los aniones (NO_3^-, Cl^-, $H_2PO_4^-$ y SO_4^{2-}) tienen concentraciones internas superiores a las predichas, indicando que su incorporación es activa. Los cationes Na^+, Mg^{2+} y Ca^{2+} tienen concentraciones internas inferiores a las predichas; por tanto, estos iones entran en la célula por difusión a favor de su gradiente de potencial electroquímico, y son exportados activamente.

El ejemplo mostrado en la tabla 6.1 es una simplificación: Las células vegetales tienen compartimentos internos y cada uno puede diferir en su composición iónica. El citosol y la vacuola son los compartimentos intracelulares más importantes en la determinación de las relaciones iónicas de las células vegetales. En las células vegetales maduras la vacuola llega a ocupar el 90% o más del volumen celular, y el citosol queda restringido a una fina capa en la periferia de la célula.

Debido a su pequeño volumen, el citosol de la mayoría de las células de angiospermas es difícil de analizar. Por esta razón, muchos de los trabajos iniciales sobre las relaciones iónicas de las plantas fueron realizados en ciertas algas verdes, como *Chara* y *Nitella*, cuyas células tienen varios centímetros de longitud y contienen un volumen citosólico apreciable. En la figura 6.4 se esquematiza las conclusiones de estos estudios y de los estudios realizados con plantas superiores.

- El potasio se acumula pasivamente tanto en el citosol como en la vacuola, excepto cuando las concentraciones extracelulares de K^+ son muy bajas, en cuyo caso éste es incorporado activamente.
- El sodio es bombeado activamente fuera del citosol a los espacios extracelulares y a la vacuola.

TABLA 6.1
Comparación de las concentraciones previstas y observadas en tejido de raíz de guisante

Ión	Concentración en el medio externo (mmol L-1)	Concentración interna (mmol L-1)	
		Predicho	Observado
K^+	1	74	75
Na^+	1	74	8
Mg^{2+}	0,25	1340	3
Ca^{2+}	1	5360	2
NO_3^-	2	0,0272	28
Cl^-	1	0,0136	7
$H_2PO_4^-$	1	0,0136	21
SO_4^{2-}	0,25	0,00005	19

Fuente: Datos de Higinbotham y col. 1967
Nota: El potencial de membrana fue medido a − 110 mV.

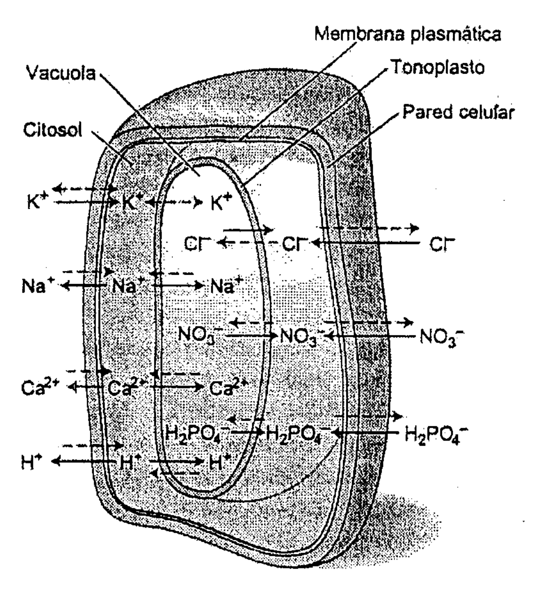


FIGURA 6.4 Las concentraciones iónicas en el citosol y en la vacuola están controladas por procesos de transporte pasivo (flechas discontinuas) y activo (flechas continuas). En la mayoría de las células vegetales, la vacuola ocupa más del 90% del volumen celular y contiene la mayor parte de los solutos celulares. El control de las concentraciones iónicas en el citosol es importante para la regulación de enzimas metabólicos. La pared celular que rodea la membrana plasmática no representa una barrera de permeabilidad y, por ello, no es un factor implicado en el transporte de solutos.

- El exceso de protones generado por el metabolismo intermediario, también son activamente expulsados del citosol. Este proceso ayuda a mantener el pH citosólico cerca de la neutralidad, mientras que la vacuola y el medio extracelular son generalmente más ácidos, en una o dos unidades de pH.
- Todos los aniones son incorporados activamente al citosol.
- El calcio es transportado activamente fuera del citosol, tanto a la membrana celular como a la membrana vacuolar, llamada *tonoplasto* (véase la figura 6.4).

La mayoría de los iones atraviesan las membranas de células vivas simultáneamente, pero K^+, Na^+ y Cl^- tienen las mayores concentraciones y las mayores permeabilidades en las células vegetales. Una versión modificada de la ecuación de Nernst, la **ecuación de Goldman,** incluye estos tres iones y da un valor más preciso del potencial de difusión en estas células. El potencial de difusión calculado a partir de la ecuación de Goldman se denomina *potencial de difusión de Goldman* (para un análisis detallado de la ecuación de Goldman, véase el **tema web 6.1**).

El transporte de protones es el principal determinante del potencial de membrana

Cuando se conocen las permeabilidades y los gradientes de los iones, es posible calcular el potencial de difusión de la membrana a partir de la ecuación de Goldman. En la mayoría de las células, el K^+ tiene la mayor concentración interna y la permeabilidad más alta. Por eso, el potencial de difusión puede aproximarse a E_K, el potencial de Nernst para el K^+.

En algunos organismos, o en tejidos como los nervios, el potencial normal remanente de la célula está próximo a E_K. Este no es el caso de plantas y hongos, que pueden mostrar valores de potencial de membrana medidos experimentalmente (con frecuencia de –200 a –100 mV) mucho más negativos que los calculados a partir de la ecuación de Goldman, que suelen ser de –80 a –50 mV. Así, además del potencial de difusión, el potencial de membrana tiene un segundo componente. El exceso de voltaje es proporcionado por la bomba electrogénica H^+–ATPasa de la membrana plasmática.

Si un ión sale o entra a la célula sin ser compensado por el movimiento de un ión de carga opuesta, se crea un voltaje a través de la membrana. Todo mecanismo de transporte activo que provoque el movimiento de una carga eléctrica neta, modificará el valor del potencial de membrana respecto al predicho por la ecuación de Goldman. Este mecanismo de transporte se denomina *bomba electrogénica* y es común en las células vivas.

Adenosina-5'-trifosfato (ATP^{4-})

La energía necesaria para el transporte activo es proporcionada casi siempre por la hidrólisis de ATP. En las plantas es posible estudiar la dependencia del potencial de membrana del ATP observando el efecto del cianuro (CN^-) en el potencial de membrana (Figura 6.5). El cianuro envenena rápidamente las mitocondrias, provocando un rápido consumo del ATP celular. Como la síntesis de ATP está inhibida, el poten-

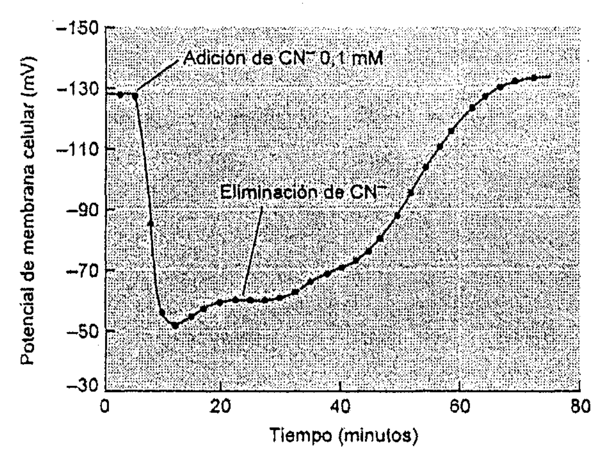


FIGURA 6.5 El potencial de membrana de una célula de guisante disminuye cuando se añade cianuro (CN^-) a la solución exterior. El cianuro bloquea la producción de ATP en las células por envenenamiento de las mitocondrias. El descenso del potencial de membrana tras la adición de cianuro indica que se requiere un aporte de ATP para el mantenimiento del potencial. La eliminación del cianuro del tejido provoca una lenta recuperación de la producción de ATP y el restablecimiento del potencial de membrana. (Según Higinbotham y col. 1970).

cial de membrana cae a los niveles del potencial de difusión de Goldman, que, como se analizó en la sección anterior, es debido principalmente a los movimientos pasivos de K^+, Cl^- y Na^+ (véase el **tema web 6.1**).

Así, los potenciales de membrana de las células vegetales tienen dos componentes: un potencial de difusión y un componente resultante del transporte iónico electrogénico (transporte que provoca la generación de un potencial de membrana) (Spanswick 1981). Cuando el cianuro inhibe el transporte iónico electrogénico, el pH del medio externo aumenta, mientras el citosol se hace más ácido debido a los H^+ que permanecen en el interior de la célula. Esta es parte de la demostración de que el transporte activo de H^+ al exterior de la célula es electrogénico.

Como analizamos anteriormente, un cambio en el potencial de membrana causado por una bomba electrogénica cambiará las fuerzas de difusión de todos los iones a través de la membrana. Por ejemplo, el transporte de H^+ al exterior de la célula puede generar la fuerza motora necesaria para la difusión pasiva de K^+ al interior de la célula. El H^+ es transportado electrogénicamente a través de la membrana plasmática no sólo en plantas, sino también en bacterias, algas, hongos y algunas células animales, como las del epitelio del riñón.

La síntesis de ATP en mitocondrias y cloroplastos también depende de una H^+-ATPasa. En estos orgánulos, esta proteína de transporte se denomina en ocasiones *ATP sintasa* debido a que forma ATP en lugar de hidrolizarlo (véase el capítulo 11).

La estructura y función de las proteínas de membrana implicadas en el transporte activo y pasivo en células vegetales analizaremos más adelante en este capítulo.

PROCESOS DE TRANSPORTE EN MEMBRANAS

Las membranas artificiales sintetizadas con fosfolípidos purificados han sido empleadas frecuentemente para los estudios de permeabilidad de membranas. Cuando se compara la permeabilidad de membranas artificiales a iones y solutos con los valores obtenidos en las membranas biológicas, aparecen importantes similitudes y diferencias (Figura 6.6).

Tanto las membranas biológicas como las artificiales tienen permeabilidades similares para moléculas no polares y muchas moléculas polares pequeñas. Por otro lado, las membranas biológicas son mucho más permeables que las bicapas artificiales a iones y algunas moléculas polares de gran tamaño, como azúcares. La razón es que, a diferencia de las bicapas artificiales, en las membranas biológicas hay **proteínas de transporte** que facilitan el paso selectivo de iones y moléculas polares.

Las proteínas de transporte muestran especificidad por los solutos que transportan, por tanto, hay una gran diversidad en las células. El procariota simple *Haemophilus*

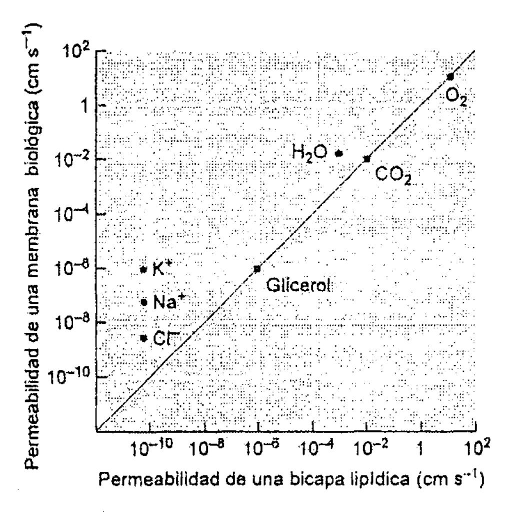


FIGURA 6.6 Valores típicos de permeabilidad, P, de una membrana biológica para algunas sustancias comparados con los de una bicapa fosfolipídica artificial. Para moléculas no polares, como el O_2 y el CO_2, y algunas moléculas pequeñas sin carga como el glicerol, los valores de P son similares en ambos sistemas. Para iones y moléculas polares seleccionadas, incluida el agua, la permeabilidad de las membranas biológicas es superior en uno o más órdenes de magnitud, debido a la presencia de proteínas de transporte. Obsérvese la escala logarítmica.

influenzae, el primer organismo para el que se secuenció el genoma completo, tiene sólo 1743 genes, pero más de 200 de estos genes (más del 10% del genoma) codifican proteínas implicadas en el transporte a través de membranas. En *Arabidopsis*, 849 genes (el 4,8% de todos los genes) codifican proteínas implicadas en el transporte a través de la membrana.

Aunque una proteína de transporte determinada normalmente es muy específica para la clase de sustancias que transportará, su especificidad no es absoluta: generalmente también transporta un pequeño grupo de sustancias similares. Por ejemplo, en plantas un transportador de K^+ de la membrana plasmática puede transportar Rb^+ y Na^+, además de K^+, aunque muestra preferencia por el K^+. Por otro lado, el transportador de K^+ es totalmente ineficaz para transportar aniones, como Cl^-, o solutos no cargados como sacarosa. Del mismo modo, una proteína implicada en el transporte de aminoácidos neutros puede transportar glicina, alanina y valina por igual, pero no transportará ácido aspártico o lisina.

En las secciones siguientes consideraremos las estructuras, funciones y papel fisiológico de varios transportadores de membrana presentes en células vegetales, especialmente en la membrana plasmática y en el tonoplasto. Empezaremos con un análisis del papel de ciertos transportadores (canales y proteínas transportadoras) en la promoción de la difusión de solutos a través de membranas. Distinguiremos entre el transporte activo primario y secundario, y analizaremos el papel de las H^+-ATPasas electrogénicas y varios transportadores simporte (proteínas que transportan dos sustancias en la misma dirección simultáneamente) que acoplan un transporte activo secundario al transporte de protones.

Los canales transportadores aumentan la difusión de agua e iones a través de las membranas

Los tres tipos de transportadores de membrana que aumentan el movimiento de solutos a través de las membranas son: *canales, transportadores* y *bombas* (Figura 6.7). Los **canales** son proteínas transmembrana que funcionan como poros selectivos a través de los cuales pueden difundir moléculas o iones, atravesando así la membrana. El tamaño del poro y la densidad de carga en su superficie interna determinan la especificidad del transporte. El transporte a través de los canales es siempre pasivo y la especificidad del transporte depende del tamaño del poro y de la carga eléctrica más que de una unión selectiva. Este transporte está principalmente limitado a iones o agua (Figura 6.8).

El transporte a través de un canal puede implicar la unión transitoria del soluto a la proteína del canal. En cualquier caso, cuando el poro está abierto, los solutos que pueden utilizarlo difunden a través de él rápidamente: unos 10^8 iones por segundo en

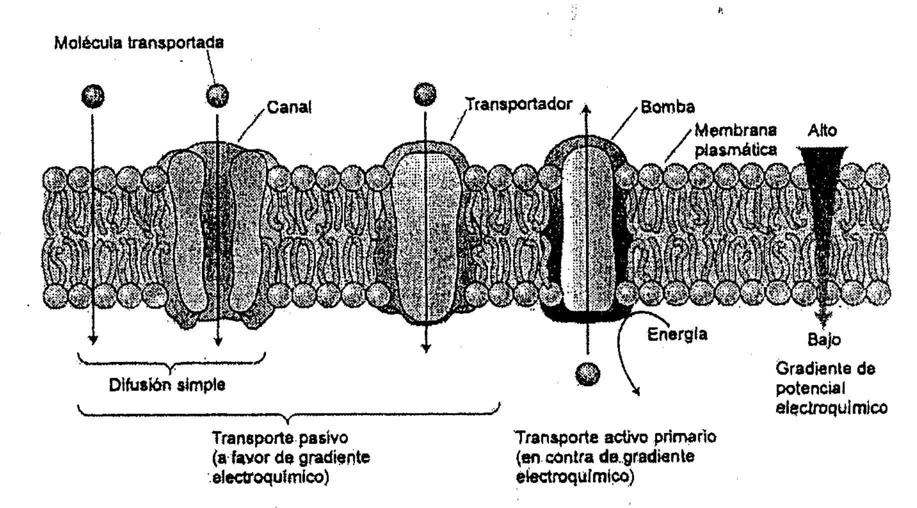


FIGURA 6.7 Las tres principales clases de proteínas de membrana especializadas en el transporte son: canales, transportadores y bombas. Los canales y los transportadores pueden mediar el transporte pasivo de solutos a través de las membranas (por difusión simple o difusión facilitada), a favor de gradiente de potencial electroquímico del soluto. Los canales actúan como poros en la membrana y su especificidad está determinada principalmente por las propiedades biofísicas del canal. Los transportadores se unen a la molécula a transportar a un lado de la membrana y la liberan en el otro. El transporte activo primario es llevado a cabo por bombas y emplea energía directamente, normalmente de la hidrólisis del ATP, para bombear solutos en contra de su gradiente de potencial electroquímico.

cada proteína canal. Los canales no están abiertos todo el tiempo: las proteínas canal tienen unas estructuras llamadas **puertas** que abren y cierran el poro en respuesta a señales externas (véase la figura 6.8B). Las señales que pueden abrir o cerrar las puertas incluyen cambios en el voltaje, unión de hormonas o luz. Por ejemplo, las puertas reguladas por voltaje se abren o cierran en respuesta a cambios en el potencial de membrana.

Se pueden estudiar canales individualmente mediante la técnica electrofisiológica del *patch clamp* (véase el **tema web 6.2**), que puede detectar la corriente eléctrica provocada por iones que difunden a través de un único canal. Los estudios de *patch clamp* revelan que, para un ión dado como el potasio, una membrana puede tener distintos canales. Estos canales pueden abrirse en diferentes rangos de voltaje o en respuesta a diferentes señales, que incluyen concentraciones de K^+, Ca^{2+}, pH, proteína quinasas y fosfatasa, etc. Esta especificidad posibilita que el transporte de cada ión se ajuste a las condiciones existentes. Así, la permeabilidad de un ión en una membrana varía, dependiendo de la mezcla de canales iónicos que están abiertos en un momento determinado.

Como vimos en el experimento de la tabla 6.1, la distribución de la mayoría de los iones a través de la membrana no está cerca del equilibrio. Los canales aniónI-

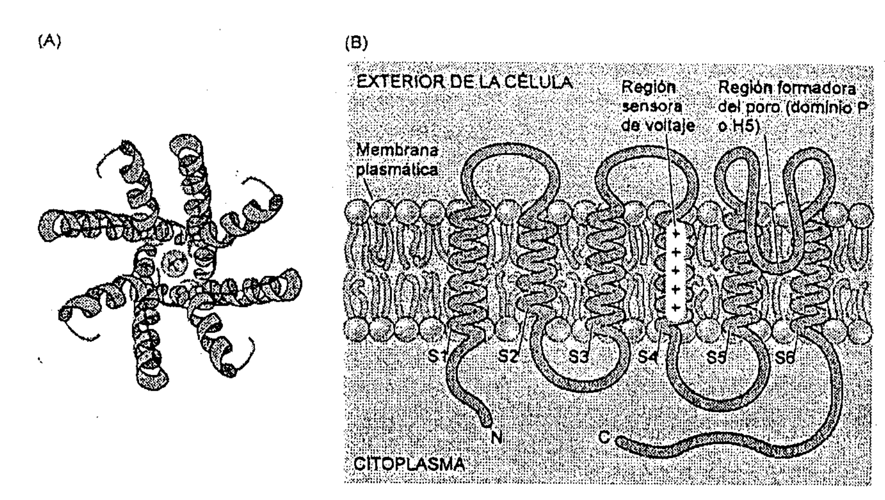


FIGURA 6.8 Modelo de los canales de K^+ en plantas. (A) Vista superior de un canal, observado a través del poro de la proteína. Las hélices transmembrana de cuatro subunidades se unen formando un cono invertido con el poro en el centro. Las regiones formadoras del poro de las cuatro subunidades, que se introducen en la membrana, poseen una región que confiere selectividad al K^+ situada en la parte externa (cerca) del poro (más detalles de la estructura de este canal se encuentran en el Ensayo Web 6.1). (B) Vista lateral de los canales rectificadores de K^+, mostrando la cadena polipeptídica de una subunidad, con las seis hélices incrustadas en la membrana. La cuarta hélice contiene aminoácidos cargados positivamente que actúan como sensores de voltaje. La región formadora del poro es un bucle entre las hélices 5 y 6. (A según Leng y col. 2002; B según Buchanan y col. 2000).

cos funcionan siempre para permitir que los aniones difundan desde la célula y se necesitan otros mecanismos para incorporarlos a la misma. Del mismo modo, los canales de calcio pueden funcionar sólo en el sentido de la liberación del calcio al citosol, y el calcio debe ser expulsado por transporte activo. La excepción es el potasio, que puede difundir hacia el interior o hacia el exterior, dependiendo de si el potencial de membrana es más negativo o más positivo que E_K, el potencial de equilibrio del potasio.

Los canales de K^+ que se abren sólo a potenciales más negativos están especializados en la difusión de K^+ hacia el interior y se conocen como canales **rectificadores de entrada de K^+**, o simplemente, **de entrada**. Contrariamente, los canales de K^+ que se abren sólo a potenciales más positivos son los canales **rectificadores de salida de K^+**, o simplemente **de salida** (véase el **ensayo web 6.1**). Mientras que los canales de entrada de K^+ funcionan por acumulación de K^+ del medio, o en la apertura de los estomas, varios canales de salida K^+ funcionan durante el cierre de los estomas, en la liberación de K^+ al xilema o en la regulación del potencial de membrana.

Los transportadores se unen y transportan sustancias específicas

A diferencia de los canales, las **proteínas transportadoras** no tienen poros que atraviesen completamente la membrana. En el transporte mediado por transportadores, la sustancia que va a ser transportada se une inicialmente a un sitio específico de la proteína. Este requerimiento de unión permite una alta selectividad en el transportador. Los transportadores están especializados por tanto en el transporte de metabolitos orgánicos específicos. La unión provoca un cambio de conformación en la proteína, de modo que la sustancia es expuesta a la solución en el otro lado de la membrana. El transporte se completa cuando la sustancia se disocia del sitio al que estaba unida en la proteína transportadora.

Debido a que se necesita el cambio conformacional en la proteína para el transporte de moléculas o iones, la tasa de transporte de un transportador es varios órdenes de magnitud inferior que el de un canal. Típicamente, los transportadores pueden transportar de 100 a 1000 iones o moléculas por segundo, que es unas 10^6 veces más lento que el transporte a través de canal. La unión y liberación de una molécula en un sitio específico de una proteína, que ocurre en el transporte mediado por una proteína transportadora, es similar a la unión y liberación de moléculas de un enzima en una reacción catalizada enzimáticamente. Como analizaremos más adelante en este capítulo, las cinéticas enzimáticas se han empleado para clasificar las proteínas transportadoras (para un análisis más detallado sobre cinéticas, véase el capítulo 2 en la página web).

El transporte mediado por transportadores puede ser tanto activo como pasivo y pueden transportar un amplio rango de sustratos. El transporte pasivo realizado por una proteína transportadora se denomina con frecuencia **difusión facilitada**, aunque sólo se parece a la difusión en que las sustancias son transportadas a favor de gradiente de potencial electroquímico sin un aporte adicional de energía. (Este término sería más apropiado para referirse al transporte a través de canales, pero históricamente no se ha usado en este sentido.)

El transporte activo primario está acoplado directamente a la energía metabólica o luminosa

Para llevar a cabo el transporte activo, un transportador ha de acoplar el transporte en contra de gradiente de un soluto al de otro que libere energía, de manera que la variación de energía libre sea negativa. **El transporte activo primario** está acoplado directamente a una fuente de energía diferente de $\Delta\tilde{\mu}_j$, como la hidrólisis de ATP, una reacción de oxidación-reducción (la cadena de transporte electrónico de mitocondrias y cloroplastos) o la absorción de luz por la proteína transportadora (en halobacterias, la bacteriorodopsina).

Las proteínas de membrana que realizan el transporte activo primario se llaman **bombas** (véase la figura 6.7). La mayoría de las bombas transportan iones como H^+ o Ca^{2+}. Sin embargo, como veremos más adelante en este capítulo, las bombas que pertenecen a la familia de transportadores que tienen «casetes o dominios de unión a ATP» pueden transportar moléculas orgánicas grandes.

Las bombas iónicas pueden clasificarse como electrogénicas o electroneutras. En general, el **transporte electrogénico** se refiere al transporte iónico que implica el movimiento neto de carga a través de la membrana. Por el contrario, el **transporte electroneutro**, como su propio nombre indica, no implica movimiento neto de carga. Por ejemplo, la Na^+/K^+-ATPasa de las células animales bombea tres iones Na^+ por cada dos iones K^+, dando lugar al movimiento neto de una carga positiva. La Na^+/K^+-ATPasa es por lo tanto, una bomba electrogénica iónica. Por el contrario, la H^+/K^+-ATPasa de las células de la mucosa gástrica animal bombea un H^+ al exterior de la célula por cada K^+ que entra, de forma que no produce un movimiento neto de carga a través de la membrana. Por tanto, la H^+/K^+-ATPasa es una bomba electroneutra.

En las membranas plasmáticas de plantas, bacterias y hongos, así como en el tonoplasto vegetal y en otras endomembranas animales y vegetales, el H^+ es el principal ión bombeado electrogénicamente a través de la membrana. La **H^+-ATPasa de la membrana plasmática** genera un gradiente de potencial electroquímico de H^+ a través de la membrana plasmática, mientras que la **H^+-ATPasa vacuolar** y la **H^+-pirofosfatasa (H^+-PPasa)** bombean electrogénicamente protones al lumen de la vacuola y de las cisternas del Golgi.

En las membranas plasmáticas vegetales, las bombas predominantes son de H^+ y Ca^{2+}, y el sentido de bombeo es hacia el exterior. Por tanto, es necesario otro mecanismo para dirigir la incorporación activa de la mayoría de los nutrientes minerales. El otro mecanismo mediante el cual los solutos pueden ser transportados activamente a través de la membrana en contra de su gradiente de potencial electroquímico es por acoplamiento de su transporte en contra de gradiente con otro soluto que sea transportado a favor de gradiente. Este tipo de cotransporte mediado por transportadores se conoce como **transporte activo secundario** y está dirigido indirectamente por bombas.

El transporte activo secundario utiliza la energía almacenada en los gradientes de potencial electroquímico

Los H^+ son expulsados del citosol por una H^+-ATPasa electrogénica que actúa en la membrana plasmática y en la membrana de la vacuola. En consecuencia, se crea un potencial de membrana y un gradiente de pH a expensas de la hidrólisis del ATP. Este gradiente de potencial electroquímico para los H^+, $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, o (cuando se expresa en otras unidades) la **fuerza protón motriz** (*fpm*), o Δp, representa la energía libre almacenada en forma de gradiente de H^+ (véase el **tema web 6.3**).

La fuerza protón motriz generada por el transporte electrogénico de H^+ es empleada en el transporte activo secundario para impulsar el transporte de muchas otras sustancias en contra de sus gradientes de potencial electroquímico. La figura 6.9 muestra como el transporte secundario puede implicar la unión de un sustrato (S) y un ión (normalmente H^+) a un transportador y un cambio conformacional en la proteína.

Hay dos tipos principales de transporte secundario: simporte y antiporte. El ejemplo de la figura 6.9 es conocido como **simporte** (y la proteína implicada se denomina *transportador simporte*) porque las dos sustancias se mueven en el mismo sentido a través de la membrana (véase también la figura 6.10A). El **antiporte** (facilitado por una proteína denominada *transportador antiporte*) se refiere al transporte acoplado en el que el movimiento a favor de gradiente de los protones dirige el transporte activo (contra gradiente) de un soluto en sentido opuesto (véase la figura 6.10B).

En ambos tipos de transporte secundario, el ión o soluto que se transporta simultáneamente con los protones se mueve en contra de su gradiente electroquímico,

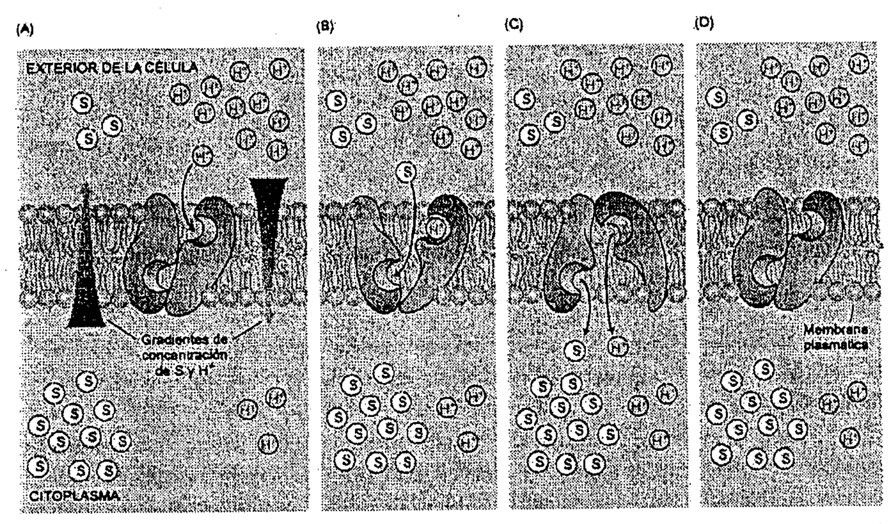


FIGURA 6.9 Modelo hipotético del transporte activo secundario. La energía que dirige el proceso ha sido almacenada como $\Delta\tilde{\mu}_H$ (simbolizado por la flecha gruesa a la derecha en A) y es empleado para incorporar un sustrato (S) en contra de su gradiente de concentración (flecha gruesa de la izquierda). (A) En la conformación inicial, los sitios de unión de la proteína están expuestos al entorno exterior y pueden unir un protón. (B) Esta unión provoca un cambio conformacional que permite la unión de una molécula de S. (C) La unión de S provoca otro cambio conformacional que expone los sitios de unión y sus sustratos al interior de la célula. (D) La liberación de un protón y una molécula de S al interior de la célula reestablece la conformación original del transportador y permite que pueda comenzar un nuevo ciclo de bombeo.

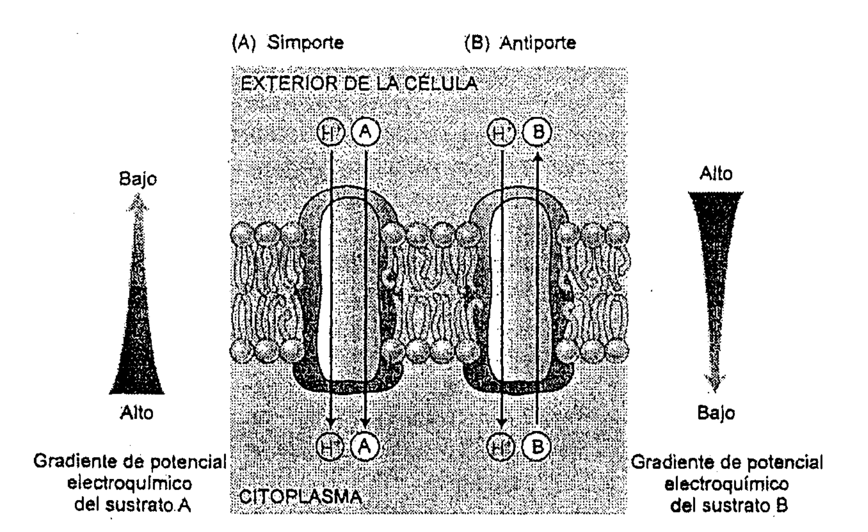


FIGURA 6.10 Dos ejemplos de transporte activo secundario acoplados a un gradiente primario de protones. (A) En el simporte, la energía disipada por el movimiento de un protón de nuevo al interior de la célula está acoplada a la incorporación de una molécula de un sustrato (por ejemplo, un azúcar) al interior de la célula. (B) En el antiporte, la energía disipada por el movimiento de un ión de nuevo al interior de la célula está acoplada a la salida de una molécula de sustrato (por ejemplo, un azúcar) al exterior de la célula. En ambos casos, la sustancia considerada se mueve en contra de su gradiente de potencial electroquímico. Mediante procesos de transporte activo secundario se pueden transportar tanto sustrato cargados como neutros.

por lo que se trata de un transporte activo. Sin embargo, la energía que dirige este transporte es proporcionada por la fuerza protón motriz más que por la hidrólisis del ATP.

Normalmente, el transporte a través de las membranas biológicas está dirigido por un sistema de transporte activo primario acoplado a la hidrólisis de ATP. El transporte de este ión, por ejemplo, el H^+, genera un gradiente iónico y un potencial electroquímico. La mayoría de los demás iones y sustratos orgánicos pueden ser transportados por una gran variedad de proteínas de transporte activo secundario, que dirigen el transporte de sus respectivos sustratos transportando simultáneamente uno o dos H^+ a favor de su gradiente de energía. Así, los iones cruzan la membrana, de salida a través de las proteínas de transporte activo primario, y de entrada a la célula a través de proteínas de transporte activo secundario. En plantas y hongos, los azúcares y aminoácidos son incorporados en simporte con protones.

La mayoría de los gradientes iónicos a través de las membranas de plantas superiores son generados y mantenidos por el gradiente electroquímico de H^+ (Tazawa y col. 1987). De hecho, estos gradientes de H^+ se generan por bombas electrogénicas

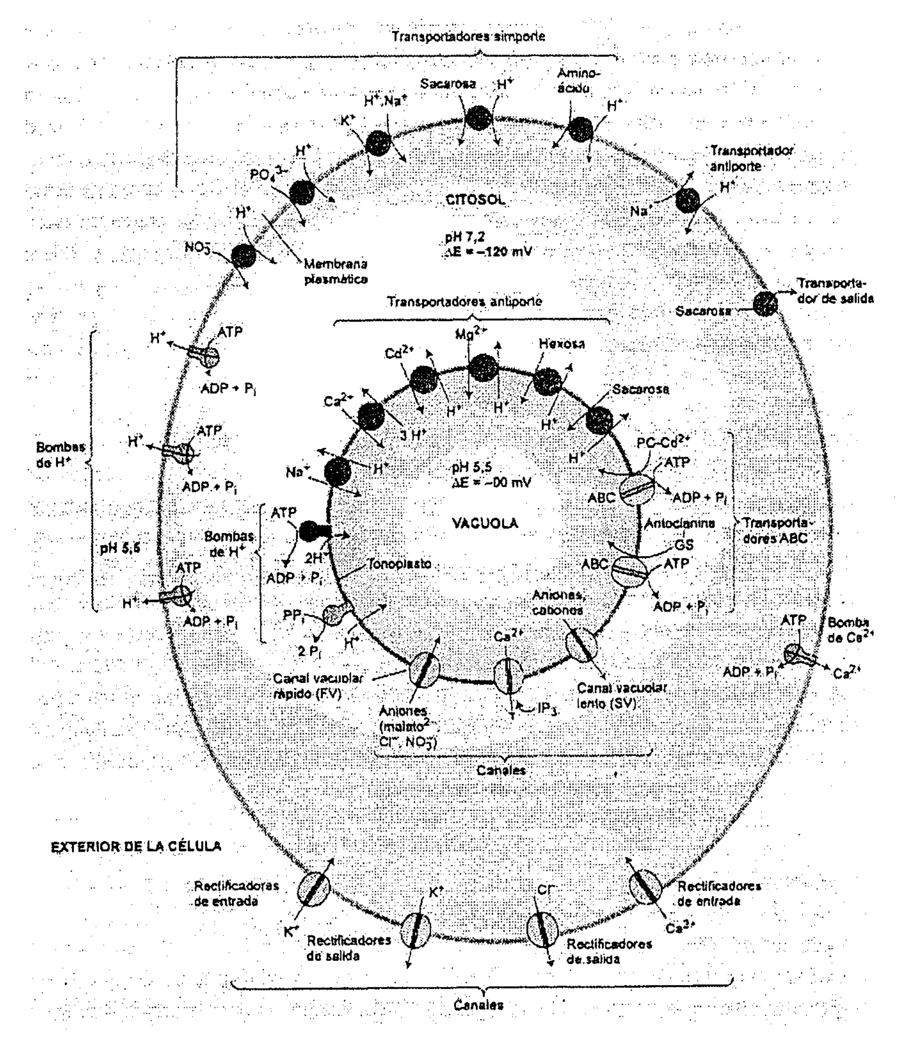


FIGURA 6.11 Visión general de varios procesos de transporte en la membrana plasmática y en el tonoplasto de células vegetales.

de protones. Las evidencias sugieren que el Na^+ es transportado al exterior de la célula por una proteína antiporte Na^+/H^+, y el Cl^-, NO_3^-, $H_2PO_4^-$, sacarosa, aminoácidos y otras sustancias entran en la célula a través de cotransportadores específicos simporte con protones.

¿Y qué ocurre con el K^+? A concentraciones externas bajas, el potasio es incorporado activamente por unos transportadores simporte; a altas concentraciones de K^+, parece que la entrada se produce por difusión a través de canales específicos. Sin embargo, esta entrada a través de canales está dirigida por una H^+-ATPasa, en el sentido en que la incorporación de K^+ está dirigida por el potencial de membrana, que se mantiene a valores más negativos que el potencial del K^+ en el equilibrio por acción de una bomba electrogénica de H^+. Por el contrario, la salida de K^+ requiere que el potencial de membrana se mantenga en valores más positivos que E_K, que puede alcanzarse si se permite la salida de Cl^- a través de los canales de Cl^-. En la figura 6.11 se ilustran varios procesos de transporte representativos localizados en la membrana plasmática y en el tonoplasto.

PROTEÍNAS DE TRANSPORTE A TRAVÉS DE MEMBRANA

En las secciones precedentes hemos visto que algunas proteínas transmembrana actúan como canales para la difusión controlada de iones. Otras proteínas de membrana actúan como proteínas transportadoras para otras sustancias (fundamentalmente moléculas e iones). El transporte activo utiliza proteínas de transporte de tipo transportador que son dirigidas directamente por hidrólisis de ATP o indirectamente como en los transportadores simporte o antiporte. Los últimos sistemas emplean la energía de gradientes iónicos (con frecuencia gradientes de H^+) para dirigir el transporte a favor de gradiente de otro ión o molécula. En las secciones siguientes estudiaremos con más detalle las propiedades moleculares, localización celular y manipulación genética de algunas de estas proteínas de transporte.

Los análisis cinéticos pueden dilucidar el mecanismo de transporte

Hasta el momento hemos descrito el transporte celular en términos energéticos. Sin embargo, el transporte celular puede ser estudiado mediante la cinética enzimática, ya que implica la unión y la disociación de moléculas de los sitios activos de las proteínas transportadoras. Otra ventaja de la aproximación cinética es que aporta nuevos datos sobre la regulación del transporte.

En los experimentos cinéticos se miden los efectos de la concentración de un ión externo (u otro soluto) sobre las tasas de transporte. Las características cinéticas de la tasa de transporte se pueden emplear para distinguir entre diferentes transportadores. La velocidad máxima ($V_{máx}$) de un transporte mediado por una proteína transportadora, y con frecuencia el transporte por un canal, no puede ser superada, con independencia de la concentración del sustrato (Figura 6.12). Se alcanza la $V_{máx}$ cuando el sitio de unión del sustrato en la proteína transportadora está ocupado permanentemente. Por tanto, el factor limitante es la concentración de la proteína transportadora y no la concentración de soluto. Así, la $V_{máx}$ es una medida del número de moléculas de una proteína transportadora específica que está funcionando en la membrana.

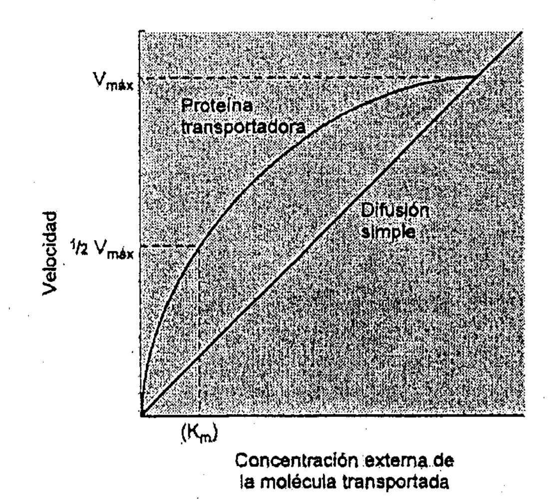


FIGURA 6.12 Las proteínas transportadoras muestran con frecuencia cinéticas de saturación ($V_{máx}$) (véase el capítulo 2 en la página web), debido a la saturación de los sitios de unión. Idealmente, la difusión a través de un canal es directamente proporcional a la concentración del soluto transportado, o para un ión, a la diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana.

La constante K_m (que numéricamente es igual a la concentración de soluto que alcanza la mitad de la velocidad máxima de transporte) tiende a reflejar las propiedades de un sitio de unión particular (para una análisis más detallado sobre K_m y $V_{máx}$ véase el capítulo 2 en la página web). Valores bajos de K_m indican que el sitio de transporte tiene una alta afinidad por la sustancia transportada. Dichos valores normalmente implican la acción de un transportador. Valores mayores de K_m indican una afinidad menor del sitio de transporte para el soluto. La afinidad es con frecuencia tan baja que, en la práctica, nunca se alcanza la $V_{máx}$. En estos casos, las cinéticas no pueden distinguir entre transportadores y canales.

Normalmente, se encuentra que cuando se estudia un amplio rango de concentraciones de soluto, el transporte tiene componentes tanto de alta como de baja afinidad. La figura 6.13 muestra la incorporación de sacarosa en protoplastos de cotiledones de soja en función de la concentración externa de sacarosa (Lin y col. 1984). La incorporación aumenta notablemente con la concentración y empieza a saturarse a unos 10 mM. A concentraciones superiores a 10 mM, la incorporación es li-

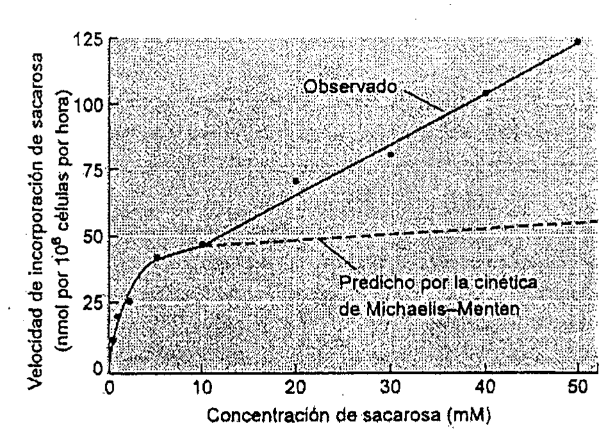


FIGURA 6.13 Las propiedades de transporte de un soluto pueden cambiar a diferentes concentraciones de soluto. Por ejemplo, a concentraciones bajas (1 a 10 mM), la velocidad de incorporación de la sacarosa en células de soja tiene una cinética de saturación típica de proteínas transportadoras. A partir de estos datos, la curva de ajuste predice una velocidad máxima ($V_{máx}$) de 57 nmol por 10^6 células por hora. Sin embargo, a concentraciones altas la velocidad de incorporación continúa aumentando linealmente en un amplio rango de concentraciones, sugiriendo la existencia de otros transportadores de sacarosa, que podrían ser transportadores con muy baja afinidad por el sustrato (Según Lin y col. 1984).

neal y no se satura. La inhibición de la síntesis de ATP con venenos metabólicos bloquea el componente saturable, pero no el lineal. Este hecho se interpreta como que la incorporación de sacarosa a concentraciones bajas es un proceso activo mediado por transportadores (simporte sacarosa/H^+). Por el contrario, a concentraciones altas, la sacarosa entra en la célula por difusión a favor de su gradiente de concentración y, por eso, es insensible a los venenos metabólicos. Sin embargo, se necesita información adicional para determinar si el componente no saturable es debido a la acción de un transportador con muy baja afinidad o a un canal. (En el caso de un soluto molecular como la sacarosa es mucho más probable el transporte mediante una proteína transportadora.)

Se han clonado los genes de muchos transportadores

La identificación, aislamiento y clonación de los genes que codifican los transportadores ha sido de gran ayuda para dilucidar las propiedades moleculares de las proteínas transportadoras. El transporte de nitrato es un ejemplo de interés, no sólo por su importancia nutricional, sino también por su complejidad. Los análisis cinéticos muestran que el transporte de nitrato, al igual que el transporte de sacarosa mostrado en la figura 6.13, tiene un componente de alta afinidad (baja K_m) y uno de baja afinidad (alta K_m). A diferencia de la sacarosa, el nitrato está cargado negativamente y esta carga eléctrica impone un requerimiento energético para el transporte del ión nitrato a cualquier concentración. La energía es proporcionada por un simporte con H^+.

El transporte de nitrato está fuertemente regulado por la disponibilidad de nitrato: los enzimas necesarios para el transporte de nitrato, así como para su asimilación (véase el capítulo 12), son inducidos por la presencia de nitrato en el medio, y la absorción también puede ser reprimida si el nitrato se acumula en las células.

Se pueden seleccionar mutantes en el transporte o reducción del nitrato, haciéndolos crecer en presencia de clorato (ClO_3^-). El clorato es un análogo del nitrato que puede ser incorporado y reducido en las plantas silvestres a clorito, un producto tóxico. Si se seleccionan plantas resistentes al clorato, probablemente mostrarán mutaciones que bloquean el transporte o la reducción del nitrato.

Algunas de estas mutaciones se han identificado en *Arabidopsis*, una pequeña crucífera, que es ideal para estudios genéticos. El primer gen de transporte identificado de esta forma codifica un transportador simporte nitrato/H^+, inducible y de baja afinidad. Dado que se han identificado y caracterizado muchos más genes para el transporte de nitrato, el panorama se ha hecho más complejo. En cada componente de transporte puede estar implicado más de un producto génico y al menos un gen codifica una proteína de transporte de afinidad dual que contribuye al transporte de alta y de baja afinidad (Chrispeels y col. 1999).

El panorama de los genes transportadores de vegetales muestra que en el genoma, más que genes individuales, existe una familia de genes para cada función de transporte. En cada familia génica las variaciones en las características del transporte, como K_m, en el modo de regulación y en la expresión diferencial en tejidos proporcionan a las plantas una gran plasticidad para adaptarse a un amplio rango de condiciones ambientales.

La identificación de regiones con secuencias similares entre los genes de transporte en vegetales y en otros organismos, como levaduras, ha permitido identificar los genes transportadores vegetales (Kochian 2000). En algunos casos ha sido posible identificar los genes tras la purificación de la proteína de transporte, pero con frecuencia la similitud de secuencia es reducida y las proteínas individuales representan una fracción demasiado pequeña de las proteínas totales. Otra forma de identificar los genes de transporte es analizar genotecas de cDNA vegetal (DNA complementario) para buscar genes que complementen, por ejemplo que compensen, las deficiencias de transporte en levaduras. Se conocen muchos mutantes de transporte en levaduras y se han utilizado para identificar los correspondientes genes vegetales por complementación.

En el caso de los genes para los canales iónicos, los investigadores han estudiado el comportamiento de la expresión de proteínas canal por expresión de genes en

oocitos del sapo *Xenopus* que, debido a su gran tamaño, son adecuados para estudios electrofisiológicos. De esta forma se han clonado tanto los canales rectificadores de salida y de entrada de K^+. De los genes identificados de canales de entrada de K^+, uno se expresa fuertemente en las células guarda de los estomas, otro en raíces y un tercero en hojas. Se considera que estos canales son los responsables de la incorporación de baja afinidad de K^+ en las células vegetales.

Se ha clonado un gen del canal responsable de la salida de K^+ de células del cilindro vascular de la raíz a los vasos xilemáticos muertos, y se han identificado varias proteínas transportadoras de alta afinidad de K^+. Se requieren más investigaciones para determinar su contribución a la incorporación del K^+ y cómo obtienen energía (véase el **tema web 6.4**). También se han identificado, mediante técnicas genéticas, genes que codifican un transportador antiporte H^+/Ca^{2+} en la vacuola vegetal, y varios transportadores simporte de protones para varios aminoácidos y azúcares (Hirshi y col. 1996; Tanner y Caspari 1996; Kuehn y col. 1999).

Se han identificado genes específicos de canales de agua

La acuaporinas son una clase de proteínas relativamente abundantes en las membranas vegetales (véase el capítulo 3). Cuando las acuaporinas se expresan en oocitos se observa que no hay corrientes iónicas, pero cuando se reduce la osmolaridad externa del medio, la expresión de estas proteínas provoca un hinchamiento y, finalmente, la rotura de los oocitos. Esta rotura de la célula es consecuencia de la entrada de agua a través de la membrana plasmática de los oocitos, que normalmente tiene una permeabilidad muy baja. Estos resultados muestran que las acuaporinas forman canales de agua en las membranas (véase la figura 3.6).

Al principio, el descubrimiento de las acuaporinas supuso una sorpresa, ya que se pensaba que la bicapa lipídica por sí misma era suficientemente permeable al agua. No obstante, las acuaporinas son comunes en las membranas vegetales y animales, y su expresión y actividad parecen estar reguladas, posiblemente por fosforilación, en respuesta a la disponibilidad de agua (Tyerman y col. 2002).

La H^+-ATPasa de la membrana plasmática posee varios dominios funcionales

La salida de los H^+ por transporte activo a través de la membrana plasmática genera un gradiente de pH y un potencial eléctrico que dirige el transporte de muchas otras sustancias (iones y moléculas) a través de varias proteínas de transporte activo secundario. La figura 6.14 muestra cómo podría funcionar la H^+-ATPasa de membrana.

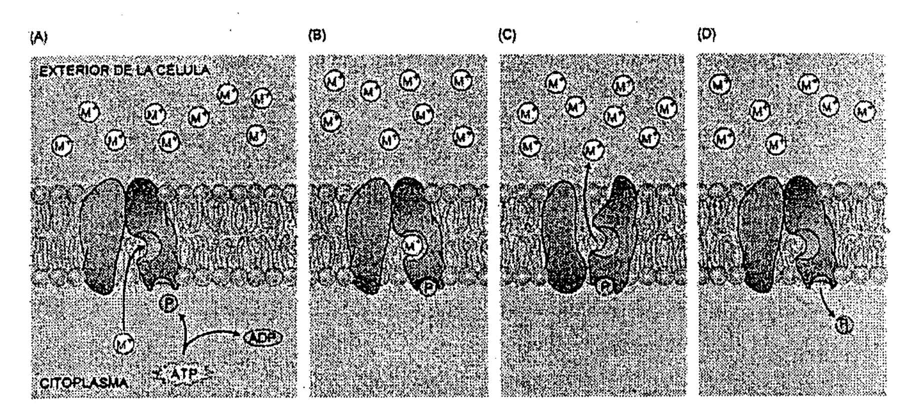


FIGURA 6.14 Etapas hipotéticas en el transporte de un catión (el catión hipotético es M^+) en contra de un gradiente de concentración por una bomba electrogénica. Esta proteína, integrada en la membrana, une al catión en el interior de la célula (A) y es fosforilado por el ATP (B). Esta fosforilación provoca un cambio conformacional que expone el catión al exterior de la célula y permite que el catión difunda (C). La liberación del ión fosfato (P) de la proteína en el interior del citosol (D) reestablece la configuración inicial de la proteína de membrana y permite iniciar un nuevo ciclo de bombeo.

La H^+-ATPasa y la Ca^{2+}-ATPasa de la membrana plasmática de células vegetales y hongos son miembros de una clase de ATPasas tipo P, que son fosforiladas como parte de un ciclo catalítico que hidroliza ATP. Debido a este paso de fosforilación, las ATPasas de la membrana plasmática son fuertemente inhibidas por vanadato (HVO_4^{2-}), un análogo del fosfato (HPO_4^{2-}) que compite con el fosfato del ATP por el sitio de fosforilación del ácido aspártico en el enzima. La alta afinidad del enzima por el vanadato se atribuye al hecho de que el vanadato mimetiza la estructura transitoria del fosfato durante la hidrólisis.

Las H^+-ATPasas de la membrana plasmática están codificadas por una familia de cerca de 10 genes. Cada gen codifica una isoforma del enzima (Sussman 1994). Las isoformas son específicas de los tejidos, y se expresan preferentemente en raíz, semilla, floema, etc. La especificidad funcional de cada isoforma no se conoce todavía; podría alterar el pH óptimo de algunas isoformas y permitir que el transporte sea regulado de forma diferente en cada tejido.

La figura 6.15 muestra un modelo de los dominios funcionales de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática de levadura, que es similar a la de plantas. La proteína tiene diez dominios transmembrana que fuerzan a la cadena polipeptídica a entrar y salir de la membrana. Algunos de los dominios insertados en la membrana delimitan la vía a través de la cual se bombean los protones. El dominio catalítico, que incluye el residuo de ácido aspártico que es fosforilado durante el ciclo catalítico, está localizado en el lado citosólico de la membrana.

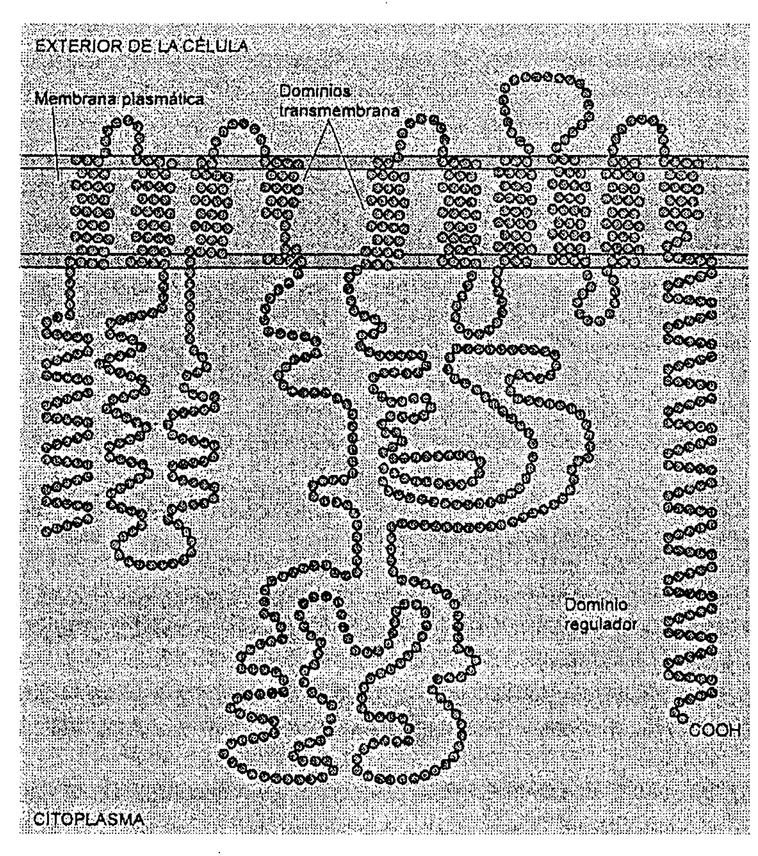


FIGURA 6.15 Representación bidimensional de la H+-AT Pasa de la membrana plasmática. La H+-AT Pasa tiene 10 dominios transmembrana. El dominio regulador es el dominio de autoinhibición. (Según Palmaren 2001).

Al igual que otros enzimas, la ATPasa de la membrana plasmática está regulada por la concentración de sustrato (ATP), el pH, la temperatura y otros factores. Además, las moléculas de H^+-ATPasa pueden ser reversiblemente activadas o desactivadas por señales específicas, como la luz, hormonas, ataque por patógenos y similares. El tipo de regulación está mediada por un dominio autoinhibidor especializado en el extremo C-terminal de la cadena polipeptídica, que actúa regulando la actividad de la bomba de protones (véase la figura 6.15). Si se elimina el dominio autoinhibidor por la acción de una proteasa, el enzima queda permanentemente activado (Palmaren 2001).

El efecto autoinhibidor del dominio del C-terminal puede también regularse por la acción de proteína quinasas y fosfatasa, que añaden o eliminan grupos fosfato a los

residuos de serina o treonina del dominio autoinhibidor del enzima. Por ejemplo, un mecanismo de respuesta a patógenos en tomate implica la activación de una proteína fosfatasa que desfosforila residuos en la H^+-ATPasa de la membrana plasmática, activándola (Vera-Estrella y col. 1994). Este es un paso en una cascada de respuestas que activan las plantas para defenderse.

La acumulación de solutos en la vacuola está dirigida por la H^+-ATPasa del tonoplasto

Como las células de las plantas aumentan de tamaño principalmente por la incorporación de agua en la gran vacuola central, la presión osmótica de la vacuola debe mantenerse suficientemente alta como para que el agua entre desde el citoplasma. El tonoplasto regula el tráfico de iones y metabolitos entre el citosol y la vacuola, al igual que la membrana plasmática regula su incorporación a la célula. El transporte a través del tonoplasto se convirtió en un área activa de estudio posibilitado por el desarrollo de métodos para el aislamiento de vacuolas intactas y de vesículas de tonoplasto (véase el **Tema Web 6.5**). Estos estudios llevaron al descubrimiento de un nuevo tipo de ATPasa que protones, transportándolos al interior de la vacuola (véase la figura 6.11).

La H^+-ATPasa vacuolar (también llamada **V-ATPasa**) difiere de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática tanto estructural como funcionalmente. La ATPasa vacuolar muestra una mayor similitud con las F-ATPasas de mitocondrias y cloroplastos (véase el capítulo 11). Como la hidrólisis del ATP no implica la formación de un intermediario fosforilado, la ATPasa vacuolar es insensible al vanadato, que, como mencionamos anteriormente, es un inhibidor de las ATPasas de la membrana plasmática. Las ATPasas vacuolares son inhibidas específicamente por el antibiótico bafilomicina, así como por altas concentraciones de nitrato; ninguno de los cuales inhibe las ATPasas de la membrana plasmática. El uso de estos inhibidores selectivos ha hecho posible identificar diferentes tipos de ATPasas y medir su actividad.

Las ATPasas vacuolares pertenecen a una clase general de ATPasas que están presentes en los sistemas de endomembranas de todos los eucariotas. Son grandes complejos enzimáticos, de unos 750 KDa, formados por al menos 10 subunidades diferentes (Lütgtge y Ratajczak 1997). Estas subunidades están organizadas en un complejo catalítico periférico, V_1, y un complejo integral de membrana, V_0, que forma un canal (Figura 6.16). Debido a sus semejanzas con las F-ATPasas, se asume que las ATPasas vacuolares actúan como motores rotatorios (véase el capítulo 11).

Las ATPasas vacuolares son bombas electrogénicas de protones que transportan protones del citoplasma a la vacuola y generan una fuerza protón motriz a través del tonoplasto. Esto explica por qué el potencial de la vacuola normalmente es unos 20

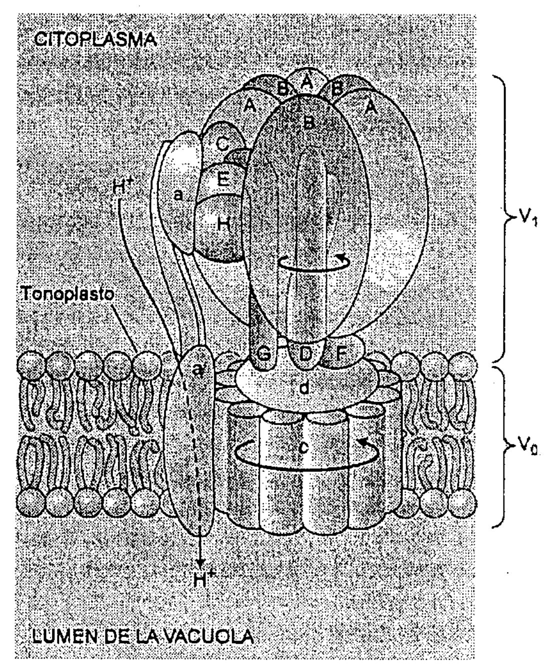


FIGURA 6.16 Modelo del motor rotatorio de la V-ATPasa. Muchas subunidades polipeptídicas se asocian para construir este complejo enzimático. El complejo catalítico V_1 se disocia fácilmente de la membrana y contiene los sitios de unión de nucleótidos y el sitio catalítico. Los componentes del complejo V_1 se designan con letras mayúsculas. El complejo intrínseco de membrana que media el transporte de H^+ se designa como V_0 y sus subunidades con letras minúsculas. Se propone que las reacciones de la ATPasa catalizadas por cada subunidad A, actuando en secuencia, provocan la rotación de la subunidad D y las seis subunidades c. Se cree que la rotación de las subunidades c respecto de la subunidad a impulsa el transporte de H^+ a través de la membrana. (Basado en una ilustración cortesía de M. F. Manolson).

ó 30 mV más positivo que el del citoplasma, aunque sigue siendo negativo con respecto al potencial externo del medio. Para mantener la neutralidad eléctrica, aniones como el Cl^- o el malato^{2-} se transportan desde el citoplasma a la vacuola a través de canales en la membrana (Barkla y Pantoja 1996). Sin el movimiento simultáneo de los aniones con los protones bombeados, la carga que se crearía a través del tonoplasto haría energéticamente imposible el bombeo adicional de protones.

La conservación de la neutralidad eléctrica por el transporte aniónico hace posible que la H^+-ATPasa vacuolar pueda generar un elevado gradiente de concentración de protones (pH) a través del tonoplasto. Este gradiente da cuenta del hecho que el pH típico del líquido vacuolar sea de 5,5, mientras que el pH citoplásmico esté siempre entre 7,0 y 7,5. Mientras que el componente eléctrico de la fuerza protón motriz dirige el

transporte de aniones al interior de la vacuola, el gradiente electroquímico de protones ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$) es aprovechado para transportar cationes y azúcares al interior de la vacuola por transporte antiporte secundario (véase la figura 6.11).

Aunque el pH de la mayoría de vacuolas es ligeramente ácido (sobre 5,5), el pH de las vacuolas en algunas especies es mucho menor, un fenómeno conocido como *hiperacidificación*. La hiperacidificación es la responsable del gusto ácido de ciertas frutas (limones) y vegetales (ruibarbo). Algunos ejemplos extremos se nombran en la tabla 6.2. Estudios bioquímicos con limones han sugerido que el bajo pH de sus vacuolas (específicamente el de las células de las vesículas de zumo) se debe a la combinación de varios factores:

TABLA 6.2
pH vacuolar de algunas especies vegetales con una alta acidificación

Tejido	Especies	pH[a]
Frutos		
	Limero (*Citrus aurantifolia*)	1,7
	Limón (*Citrus limon*)	2,5
	Cereza (*Prunus cerasus*)	2,5
	Pomelo (*Citrus paradisi*)	3,0
Hojas		
	Oxalis en roseta (*Oxalis deppei*)	1,3
	Begonia (*Begonia semperflorens*)	1,5
	Begonia 'Lucerna'	0,9 – 1,4
	Oxalis spp.	1,9 – 2,6
	Acedera (*Rumex* spp.)	2,6
	Chumbera (*Opuntia phaeacantha*)[b]	1,4 (6:45 A.M.) 5,5 (4:00 P.M.)

Fuente: Datos de Small 1946.
[a] Los valores representan el pH del zumo o la savia de cada tejido, normalmente un buen indicador del pH vacuolar.
[b] El pH vacuolar del cactus *Opuntia phaeacantha* varía con la hora del día. Como se analizará en el capítulo 8, muchas plantas carnosas típicas de los desiertos tienen un tipo de fotosíntesis especializada, llamada metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), que hace que el pH de las vacuolas disminuya durante la noche.

- La baja permeabilidad de la membrana vacuolar a los protones permite generar un elevado gradiente de pH.
- Una ATPasa vacuolar especializada es capaz de bombear protones más eficientemente (con menos gasto de energía) que las ATPasas vacuolares normales (Müller y col. 1997).
- La acumulación de los ácidos orgánicos cítrico, málico y oxálico, ayuda a mantener el pH bajo en la vacuola, actuando como tampones.

Las vacuolas vegetales obtienen la energía de una segunda bomba de protones, la H^+-pirofosfatasa

Parece que otro tipo de bomba de protones, una H^+-pirofosfatasa (H^+-PPasa) (Rea y col. 1998) actúa en paralelo a la ATPasa vacuolar para generar un gradiente de protones a través del tonoplasto (véase la figura 6.11). Este enzima está formado por un único polipéptido de 80 KDa de masa molecular. La H^+-PPasa obtiene la energía de la hidrólisis de pirofosfato inorgánico (PP_i).

La energía libre liberada por la hidrólisis del PP_i es menor que la liberada a partir de la hidrólisis del ATP. Sin embargo, la H^+-PPasa vacuolar transporta sólo un H^+ por PP_i hidrolizado, mientras que la ATPasa vacuolar parece transportar dos H^+ por ATP hidrolizado. Así, la energía disponible por H^+ transportado parece ser la misma y los dos enzimas pueden ser capaces de generar gradientes de H^+ comparables en magnitud.

En algunas plantas, la síntesis de la H^+-PPasa vacuolar es inducida por niveles bajos de O_2 (hipoxia) o por bajas temperaturas. Esto indica que la H^+-PPasa vacuolar puede funcionar como un sistema de refuerzo para mantener el metabolismo celular esencial en condiciones en que el aporte de ATP está reducido debido a la inhibición de la respiración por hipoxia o por frío. Es destacable que la H^+-PPasa no se encuentra en animales ni en levaduras, aunque un enzima similar se encuentra en algunas bacterias y protistas.

En la vacuola se secuestran metabolitos de gran tamaño como flavonoides, antocianinas o productos secundarios del metabolismo. Estas grandes moléculas son transportadas a la vacuola por transportadores con casete de unión a ATP (ABC, del inglés ATP-binding cassette). Los procesos de transporte por los transportadores ABC consumen ATP, y no dependen de un gradiente electroquímico primario (véase el **tema web 6.6**). Estudios recientes han demostrado que los transportadores ABC se encuentran también en la membrana plasmática y en la mitocondria (Theodoulou 2000).

El calcio intracelular está regulado por bombas de calcio, transportadores antiporte y canales de calcio

El calcio es otro ión importante cuya concentración está fuertemente regulada. Las concentraciones de calcio en la pared celular y los espacios apoplásticos (extracelulares) son de orden milimolar; la concentración citosólica del Ca^{2+} libre es mantenida a niveles micromolares (10^{-6} M), en contra del gran gradiente de potencial electroquímico que impulsa al Ca^{2+} a difundir al interior de la célula.

Pequeñas variaciones en las concentraciones citosólicas de Ca^{2+} alteran drásticamente la actividad de los enzimas, haciendo del calcio un segundo mensajero muy importante en la transducción de señales. La mayor parte del Ca^{2+} es almacenado en el interior de la vacuola central, donde es incorporado por acción de un transportador antiporte Ca^{2+}/H^+, que usa el potencial electroquímico del gradiente de protones para obtener la energía necesaria para acumular calcio en el interior de la vacuola (Bush 1995). La mitocondria y el retículo endoplásmico también almacenan calcio.

En algunas células, la salida de calcio de la vacuola al citosol es desencadenada por el inositol trifosfato (IP_3). El IP_3 que paree actuar como «un segundo mensajero» en ciertas rutas de transducción de señal; induce la apertura de algunos canales de calcio dependientes de IP_3 en el tonoplasto y en el retículo endoplásmico (RE). (Para una descripción más detallada de las rutas de transducción de señal véase el capítulo 14 en la página web).

Se han encontrado ATPasas de calcio en la membrana plasmática (Chung y col. 2000) y en algunas endomembranas de las células vegetales (véase la figura 6.11). Las células vegetales regulan las concentraciones del Ca^{2+} citosólico controlando la apertura de canales de Ca^{2+} para permitir que el calcio difunda al interior, así como modulando la actividad de las bombas que extraen el Ca^{2+} del citoplasma a los espacios extracelulares. Mientras las bombas de calcio de la membrana plasmática sacan el calcio de la célula, las bombas de calcio del RE lo transportan al lumen del RE.

TRANSPORTE DE IONES EN LAS RAÍCES

Los nutrientes minerales absorbidos por la raíz son transportados al vástago por la corriente transpiratoria que circula en el xilema (véase el capítulo 4). Tanto la incorporación de nutrientes como el consiguiente movimiento de los iones minerales desde la superficie de la raíz, a través del córtex, al xilema son procesos altamente específicos y regulados.

El transporte de iones a través de la raíz obedece a las mismas leyes biofísicas que gobiernan el transporte celular. Sin embargo, como en el caso del movimiento del agua (véase el capítulo 4), la anatomía de las raíces impone algunas restricciones especiales en la ruta de movimiento de un ión. En esta sección analizaremos las rutas y los mecanismos implicados en el movimiento radial de los iones desde la superficie de la raíz a los elementos traqueales del xilema.

Los solutos se mueven a través del apoplasto y el simplasto

Hasta ahora, nuestro análisis del transporte celular de iones no ha incluido la pared celular. En términos de transporte de pequeñas moléculas, la pared celular es una red de polisacáridos a través de la cual los minerales difunden. Debido a que todas las células vegetales están separadas por paredes celulares, los iones pueden difundir a través de todo un tejido (o ser transportados pasivamente por el flujo de agua) a través del espacio de la pared celular sin entrar en las células vivas. Esta continuidad de la pared celular se denomina *espacio extracelular* o *apoplasto* (véase la figura 4.3).

Puede determinarse el volumen apoplástico de un tejido vegetal comparando la absorción de agua marcada con ^3H y manitol marcado con ^{14}C. El manitol es un polialcohol no permeable que difunde en el espacio extracelular, pero que no puede en-

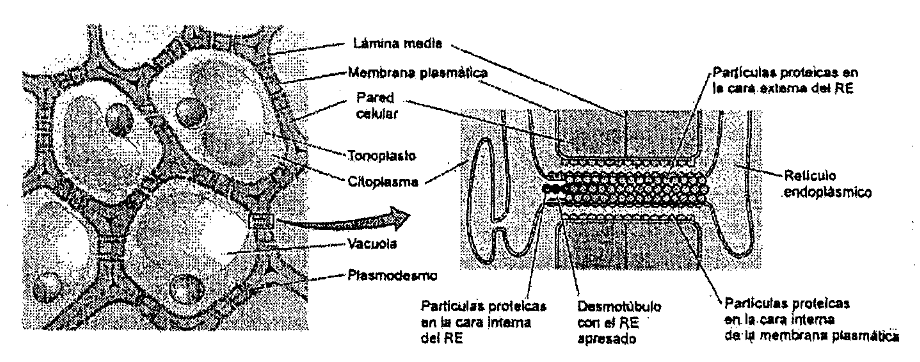


FIGURA 6.17 Diagrama ilustrando cómo los plasmodesmos conectan los citoplasmas de células adyacentes. Los plasmodesmos tienen unos 40 nm de diámetro y permiten la difusión del agua y de moléculas pequeñas de una célula a la siguiente. Además, el tamaño de la abertura puede regularse por reordenamiento de las proteínas internas para permitir el paso de moléculas mayores.

trar en las células. Por otro lado, el agua entra libremente tanto en las células como en las paredes celulares. Medidas de este tipo han mostrado que las paredes celulares ocupan entre un 5 y un 20% del volumen del tejido vegetal.

Al igual que las paredes celulares forman una fase continua, el citoplasma de células vecinas también lo hace, y al conjunto se le conoce como *simplasto*. Las células vegetales están interconectadas por puentes citoplásmicos llamados plasmodesmos (véase el capítulo 1), poros cilíndricos de 20 a 60 nm de diámetro (véase la figura 1.27). Cada plasmodesmo está delimitado por una membrana plasmática que contiene un túbulo central, el desmotúbulo, que es una continuación del retículo endoplásmico.

En tejidos en los que hay un transporte intercelular significativo, las células adyacentes pueden estar conectadas por un gran número de plasmodesmos, hasta 15 por micrometro cuadrado de superficie celular (Figura 6.17). Las células secretoras especializadas, como las de los nectarios florales y las glándulas salinas de las hojas, tienen altas densidades de plasmodesmos; lo mismo ocurre en las células próximas al ápice de la raíz, donde se produce la mayor parte de la absorción de nutrientes.

Por inyección de colorantes o haciendo medidas de resistencia eléctrica en las células con gran número de plasmodesmos, los investigadores han demostrado que iones, agua y solutos de pequeño tamaño pueden moverse a través de estos poros. Como cada plasmodesmo está parcialmente ocluido por el desmotúbulo y proteínas asociadas (véase el capítulo 1), el movimiento de moléculas grandes como proteínas requiere mecanismos especiales (Ghoshroy y col. 1997). Por otro lado, los iones se mueven por la planta de célula a célula por simple difusión a través del simplasto (véase el capítulo 4).

El movimiento de iones a través de la raíz cruza tanto el espacio simplástico como el apoplástico

La absorción de iones por las raíces (véase el capítulo 5) es mayor en la zona de pelos radicales que en el meristemo y en la zona de elongación. Las células de la zona de los pelos radicales han completado su elongación, pero no han iniciado su crecimiento secundario. Los pelos radicales son simples extensiones de las células epidérmicas que aumentan la superficie disponible para la absorción de iones.

Un ión que penetra en una raíz puede entrar inmediatamente en el simplasto cruzando la membrana plasmática de una célula epidérmica o puede entrar en el apoplasto y difundir entre las células epidérmicas a través de las paredes celulares. Desde el apoplasto del córtex, un ión puede bien cruzar por la membrana plasmática de una célula cortical y entrar al simplasto, o bien difundir radialmente hasta la endodermis por el apoplasto. En cualquier caso, el ión debe entrar en el simplasto antes de que pueda penetrar en el cilindro vascular, debido a la presencia de la banda de Caspary.

El apoplasto forma una fase continua desde la superficie de la raíz a través del córtex. En el límite entre el cilindro vascular (la estela) y el córtex, hay una capa de células especializadas, la endodermis. Como analizamos en los capítulos 4 y 5, la capa de células suberizada de la endodermis, conocida como banda de Caspary, bloquea de forma efectiva la entrada de agua e iones al cilindro vascular vía apoplasto.

Una vez que un ión ha entrado en el cilindro vascular cruzando la endodermis a través de las conexiones simplásticas, continúa la difusión célula a célula hasta xilema. Finalmente, el ión vuelve a entrar en el apoplasto y difunde a las traqueidas o a los elementos de los vasos del xilema. De nuevo la banda de Caspary evita que el ión difunda al exterior de la raíz por el apoplasto. La presencia de la banda de Caspary permite mantener una concentración iónica más alta en el xilema que en el agua del suelo que rodea las raíces.

Las células del parénquima xilemático participan en la carga del xilema

Una vez los iones se han incorporado al simplasto de la raíz en la epidermis o en el córtex, deben ser cargados a las traqueidas y elementos de los vasos del cilindro vascular para ser transportados al vástago. El cilindro vascular está formado por elementos traqueales muertos y células vivas del parénquima xilemático. Como los elementos de las traqueidas del xilema son células muertas, carecen de continuidad citoplasmática con el parénquima que las rodea. Para entrar en los elementos traqueales, los iones han de salir del simplasto cruzando la membrana plasmática pòr segunda vez.

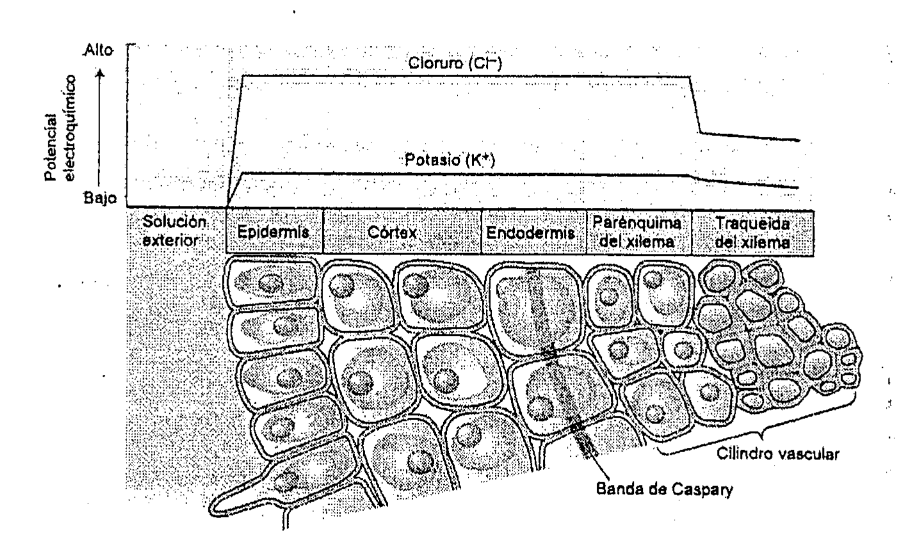


FIGURA 6.18 Diagrama que muestra los potenciales electroquímicos de K^+ y Cl^- a través de la raíz de maíz. Para determinar los potenciales electroquímicos, se introdujo la raíz en una solución 1 mM de KCl y 0,1 mM de $CaCl_2$. Se colocó un electrodo de referencia en la solución externa y en diferentes células de la raíz se insertó un electrodo para tomar las medidas. El eje horizontal muestra los diferentes tejidos que se encuentran en una sección transversal de la raíz. El aumento sustancial en el potencial electroquímico para el K^+ y el Cl^- entre el medio externo y la epidermis indica que los iones son incorporados a la raíz por procesos de transporte activo. Por el contrario, el descenso en los vasos del xilema sugiere que los iones son transportados al xilema por difusión pasiva a favor de su gradiente de potencial electroquímico. (Según Dunlop y Bowling 1971).

El proceso por el que los iones salen del simplasto y entran en las células conductoras del xilema se llama **carga del xilema**. Los mecanismos de carga del xilema han confundido durante mucho tiempo a los científicos. Los iones podrían entrar a los elementos de las traqueidas y los vasos por simple difusión pasiva. En este caso, el movimiento de iones desde la superficie de la raíz al xilema requeriría un único paso con aporte energético. El sitio de este único paso de incorporación dependiente de energía serían las superficies de las membranas plasmáticas de las células epidérmicas, corticales o endodérmicas. De acuerdo con el modelo de difusión pasiva, los iones se mueven pasivamente al cilindro vascular a través del simplasto a favor de un gradiente de potencial electroquímico, y entonces se liberan al exterior de las células vivas del cilindro vascular (posiblemente debido a una disminución de la disponibilidad de oxígeno en el interior de la raíz) a las células conductoras muertas del xilema.

El apoyo a este modelo de difusión pasiva vino de las medidas con microelectrodos iónicos específicos que permitieron medir el potencial electroquímico de varios iones a través de raíces de maíz (Figura 6.18) (Dunlop y Bowling 1971). Los datos

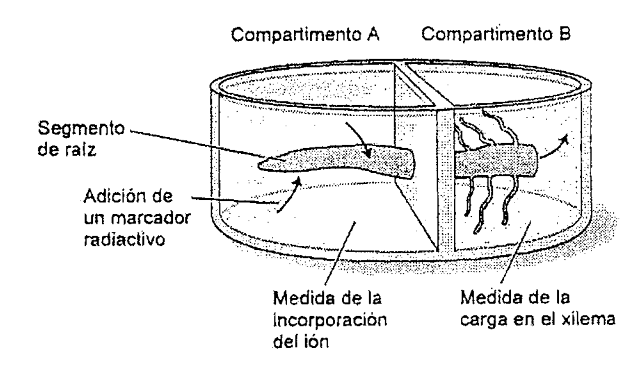


FIGURA 6.19 Se puede medir la relación entre la incorporación de un ión en la raíz y la carga del xilema colocando un segmento de raíz entre dos compartimentos y añadiendo un marcador radiactivo a uno de ellos (en este caso el compartimento A). La velocidad de desaparición del marcador del compartimento A proporciona una medida de la incorporación del ión, y la velocidad de aparición en el compartimento B proporciona una medida de la carga en el xilema. (Según Lüttge y Higinbotham 1979).

de estos y otros estudios indican que K^+, Cl^-, Na^+, SO_4^{2-} y NO_3^- son acumulados activamente por la células epidérmicas y corticales, y son mantenidos en el xilema en contra de su gradiente de potencial electroquímico cuando se compara con el medio externo (Lüttge y Higinbotham 1979). No obstante, ninguno de estos iones tiene un potencial electroquímico mayor en el xilema que en el córtex o en porciones vivas del cilindro vascular. Por tanto, el movimiento final de estos iones en el xilema podría ser debido a difusión pasiva.

No obstante, otras observaciones han indicado que el paso final de la carga del xilema puede ser incluir procesos de transporte activo al cilindro vascular (Lüttge y Higibotham 1979). Con el aparato mostrado en la figura 6.19 es posible medir simultáneamente la incorporación de un ión en el citoplasma epidérmico o cortical y la carga del ión en el xilema.

Empleando tratamientos con inhibidores y hormonas vegetales, los investigadores han demostrado que la incorporación de un ión en el córtex y la carga de un ión en el xilema se producen independientemente. Por ejemplo, el tratamiento con el inhibidor de síntesis proteica cicloheximida o con la citoquinina benziladenina, inhibe la carga del xilema sin afectar la incorporación en el córtex. Este resultado indica que la salida desde las células del cilindro vascular está regulada independientemente de la incorporación por las células corticales.

Estudios bioquímicos recientes apoyan el papel de las células del parénquima xilemático en la carga del xilema. Las membranas plasmáticas de las células del parénquima xilemático contienen bombas de protones, canales de agua y una serie de canales iónicos especializados en la entrada y la salida de sustancias (Maathuis y col.

1997). En parénquima xilemático de cebada, se han identificado dos tipos de canales de salida específicos: canales de salida específicos de K^+ y canales no selectivos de salida de cationes. Estos canales están regulados tanto por potenciales de membrana como por concentraciones citosólicas de calcio (De Boer y Wegner 1997). Estos descubrimientos sugieren que el flujo de iones desde las células del parénquima del xilema a los elementos traqueales del xilema, más que estar debido a una simple pérdida por disfunción, está sujeto a un estricto control metabólico a través de la regulación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática y los canales de salida de iones.

RESUMEN

El movimiento de moléculas e iones de un lugar a otro se conoce como transporte. Las plantas intercambian solutos y agua con el medio y entre sus tejidos y órganos. Los procesos de transporte local y a larga distancia están controlados por las membranas celulares.

Las fuerzas que dirigen el transporte biológico, que incluyen gradientes de concentración, gradientes de potencial eléctrico y presiones hidrostáticas, están integradas en una expresión denominada potencial electroquímico. El transporte de solutos a favor de gradiente químico (por ejemplo, difusión) se denomina transporte pasivo. El movimiento de solutos contra el gradiente de potencial químico se conoce como transporte activo y requiere el aporte de energía.

La característica de la membrana que permite o restringe el movimiento de una sustancia se denomina permeabilidad de membrana. La permeabilidad de membrana depende de las propiedades químicas del soluto y de la composición lipídica de la membrana, así como de las proteínas de membrana que facilitan el transporte de sustancias específicas.

Cuando los cationes y los aniones se mueven pasivamente a través de la membrana a diferentes velocidades, el potencial eléctrico que se genera se denomina potencial de difusión. Para cada ión, la relación entre la diferencia de voltaje a través de la membrana y la distribución del ión en el equilibrio se describe con la ecuación de Nernst. La ecuación de Nernst muestra que, en el equilibrio, la diferencia de concentración de un ión entre dos compartimentos está equilibrada por la diferencia de voltaje que existe entre los compartimentos. Esta diferencia de voltaje, o potencial de membrana, está presente en todas las células vivas debido a la distribución asimétrica de los iones entre el interior y el exterior de las células.

Los efectos eléctricos de los diferentes iones que difunden simultáneamente a través de la membrana se integran en la ecuación de Goldman. Las bombas electrogénicas, que llevan a cabo el transporte activo de una carga neta, cambian el potencial de membrana respecto del valor generado por difusión.

Las membranas contienen proteínas especializadas (canales, transportadores y bombas) que facilitan el transporte de solutos. Los canales son proteínas de transporte que se integran en la membrana, formando poros a través de los cuales difunden los solutos a favor de su gradiente de potencial electroquímico. Los transportadores unen un soluto en un lado de la membrana y lo liberan en el otro. La especificidad del transporte se determina por las propiedades de canales y transportadores.

Una familia de ATPasas que bombea H^+ proporciona la principal fuerza motora para el transporte a través de la membrana plasmática de las células vegetales. Existen otras dos clases de bombas electrogénicas de protones en el tonoplasto con esta finalidad. Las células vegetales también tienen ATPasas que bombean calcio y que participan en la regulación de las concentraciones de calcio intracelular, así como los transportadores de casete de unión a ATP, que usan la energía del ATP para transportar grandes moléculas aniónicas. El gradiente de potencial electroquímico generado por el bombeo de H^+ se emplea también para dirigir el transporte de otras sustancias en un proceso llamado transporte secundario.

Estudios genéticos han permitido identificar muchos genes y sus correspondientes proteínas de transporte, responsables de la versatilidad del transporte en las plantas. Las medidas electrofisiológicas mediante la técnica de patch clamp proporcionan una información única sobre los canales iónicos y permite obtener medidas de la permeabilidad y la apertura de canales.

Los solutos se mueven entre las células a través de los espacios extracelulares (el apoplasto) o de citoplasma a citoplasma (vía el simplasto). Los citoplasmas de las células vecinas están conectados por plasmodesmos, que posibilitan el transporte simplástico. Cuando un ión entra en la raíz, puede ser incorporado al citoplasma de una célula epidérmica o puede difundir a través del apoplasto al córtex de la raíz y desde ahí entrar al simplasto a través de una célula cortical. Desde el simplasto, el ión es cargado al xilema y transportado al vástago.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

6.1 Relación entre el potencial de membrana y la distribución de varios iones a través de la membrana: Ecuación de Goldman

Breve explicación del uso de la ecuación de Goldman para calcular la permeabilidad de membrana para más de un ión.

6.2 Estudios de patch clamp en células vegetales
Se describe el método electrofisiológico del patch clamp aplicado a las células vegetales, con algunos ejemplos específicos.

6.3 Quimiósmosis en acción
La teoría quimiosmótica explica cómo los gradientes eléctricos y de concentración se emplean para llevar a cabo el trabajo celular.

6.4 Análisis de múltiples sistemas de transportadores
La aplicación de los principios de cinética enzimática a los sistemas transportadores proporciona un modo efectivo para caracterizar diferentes transportadores

6.5 Estudios de transporte con vacuolas y vesículas de membrana aisladas
Ciertas técnicas experimentales permiten el aislamiento de tonoplastos y membranas plasmáticas para su estudio.

6.6 Transportadores ABC en plantas
Los transportadores con casete de unión a ATP (ABC) son una familia de proteínas de transporte activo que obtienen energía directamente del ATP.

ENSAYO WEB

6.1 Canales de potasio
Se han caracterizado varios canales de K^+ en plantas.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Barkla B. J. y Pantoja O. (1996) Physiology of ion transport across the tonoplast of higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 159–184.

Buchanan B. B., Gruissem W. y Jones R. L., eds. (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*.Amer.Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD.

Bush D. S. (1995) Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 95–122.

Chrispeels M. J., Crawford N. M. y Schroeder J. I. (1999) Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells. *Plant Cell* 11: 661–675.

Chung W. S., Lee S. H., Kim J. C., Heo W. D., Kim M. C., Park C. Y., Park H. C., Lim C. O., Kim W. B., Harper J. F. y Cho M. J. (2000) Identification of a calmodulin-regulated soybean Ca^{2+}-ATPase (SCA1) that is located in the plasma membrane. *Plant Cell* 12: 1393–1407.

De Boer A. H. y Wegner L. H. (1997) Regulatory mechanisms of ion channels in xylem parenchyma cells. *J. Exp. Bot.* 48: 441–449.

Dunlop J. y Bowling D. J. F. (1971) The movement of ions to the xylem exudate of maize roots. *J. Exp. Bot.* 22: 453–464.

Ghoshroy S., Lartey R., Sheng J. y Citovsky V. (1997) Transport of proteins and nucleic acids through plasmodesmata. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 27–50.

Higinbotham N., Etherton B. y Foster R. J. (1967) Mineral ion contents and cell transmembrane electropotentials of pea and oat seedling tissue. *Plant Physiol.* 42: 37–46.

Higinbotham N., Graves J. S. y Davis R. F. (1970) Evidence for an electrogenic ion transport pump in cells of higher plants. *J. Membr. Biol.* 3: 210–222.

Hirshi K. D., Zhen R.-G., Rea P. A. y Fink G. R. (1996) CAX1, an H^+/Ca^{2+} antiporter from *Arabidopsis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 93: 8782–8786.

Kochian L. V. (2000) Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport and utilization. En *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem y R. Jones, eds., American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, págs. 1204–1249.

Kuehn C., Barker L., Buerkle L. y Frommer W. B. (1999) Update on sucrose transport in higher plants. *J. Exp. Bot.* 50: 935–953.

Leng Q., Mercier R. W., Hua B-G., Fromm H. y Berkowitz G. A. (2002) Electrophysical analysis of cloned cyclic nucleotide-gated ion channels. *Plant Physiol.* 128: 400–410.

Lin W., Schmitt M. R., Hitz W. D. y Giaquinta R. T. (1984) Sugar transport into protoplasts isolated from developing soybean cotyledons. *Plant Physiol.* 75: 936–940.

Lüttge U. y Higinbotham N. (1979) *Transport in Plants.* Springer-Verlag, New York.

Lüttge U. y Ratajczak R. (1997) The physiology, biochemistry and molecular biology of the plant vacuolar ATPase. *Adv. Bot. Res.* 25: 253–296.

Maathuis F. J. M., Ichida A. M., Sanders D. y Schroeder J. I. (1997) Roles of higher plant K^+ channels. *Plant Physiol.* 114: 1141–1149.

Müller M., Irkens-Kiesecker U., Kramer D. y Taiz L. (1997) Purification and reconstitution of the vacuolar H^+-ATPases from lemon fruits and epicotyls. *J. Biol. Chem.* 272: 12762–12770.

Nobel P. (1991) *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press, San Diego, CA.

Palmgren M. G. (2001) Plant plasma membrane H^+-ATPases: Powerhouses for nutrient uptake. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 817–845.

Rea P. A., Li Z-S., Lu Y-P. y Drozdowicz Y. M.(1998) From vacuolar Gs-X pumps to multispecific ABC transporters. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 727–760.
Small J. (1946) *pH and Plants, an Introduction to Beginners*. D. Van Nostrand, New York.
Spanswick R. M. (1981) Electrogenic ion pumps. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32: 267–289.
Sussman M. R. (1994) Molecular analysis of proteins in the plant plasma membrane. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 211–234.
Tanner W. y Caspari T. (1996) Membrane transport carriers. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 595–626.
Tazawa M., Shimmen T. y Mimura T. (1987) Membrane control in the *Characeae*. *Annu. Rev. Plant Phsyiol.* 38: 95–117.
Theodoulou F. L. (2000) Plant ABC transporters. *Biochim. Biophys. Acta* 1465: 79–103.
Tyerman S. D., Niemietz C. M. y Bramley H. (2002) Plant aquaporins: Multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Envir.* 25: 173–194.
Vera-Estrella R., Barkla B. J., Higgins V. J. y Blumwald E. (1994) Plant defense response to fungal pathogens. Activation of host-plasma-membrane H^+-ATPase by elicitor-induced enzyme dephosphorylation. *Plant Physiol.* 104: 209–215.

UNIDAD





BIOQUÍMICA Y METABOLISMO

Capítulo 7

FOTOSÍNTESIS: LAS REACCIONES LUMINOSAS

LA VIDA EN LA TIERRA DEPENDE, EN ÚLTIMA INSTANCIA DE LA ENERGÍA derivada del sol. La fotosíntesis es el único proceso biológico de importancia que puede aprovechar esta energía. Además, una gran parte de las fuentes de energía del planeta resultan de la actividad fotosintética en tiempos recientes o antiguos (combustibles fósiles). Este capítulo introduce los principios físicos básicos en los que se basa el almacenamiento fotosintético de energía y el estado actual de conocimientos de la estructura y función del aparato fotosintético (Blankenship 2002).

El termino fotosíntesis significa literalmente «síntesis utilizando luz». Como veremos en este capítulo, los organismos fotosintéticos utilizan la energía solar para la síntesis de compuestos orgánicos que no pueden formarse sin este aporte de energía. Más específicamente, la energía luminosa dirige la síntesis de carbohidratos a partir de dióxido de carbono y agua, generando oxígeno:

$$\underset{\text{Dióxido de carbono}}{6\,CO_2} + \underset{\text{Agua}}{6\,H_2O} \rightarrow \underset{\text{Carbohidrato}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Oxígeno}}{6\,O_2}$$

La energía almacenada en estas moléculas puede ser aprovechada posteriormente en otros procesos celulares de la planta y como fuente de energía para todas las formas de vida.

Este capítulo se centra en el papel de la luz en la fotosíntesis, la estructura del aparato fotosintético y los procesos que se inician con la excitación de la clorofila por la luz y que culmina con la síntesis de ATP y NADPH.

FOTOSÍNTESIS EN PLANTAS SUPERIORES

El tejido fotosintético más activo en las plantas superiores es el mesofilo de las hojas. Las células del mesofilo tienen un gran número de cloroplastos, que contienen

los pigmentos verdes especializados en la absorción de luz, las **clorofilas**. En la fotosíntesis, la planta utiliza la energía solar para oxidar el agua, con la consiguiente liberación de oxígeno y para reducir el dióxido de carbono, formando grandes compuestos carbonados, principalmente azúcares. La compleja serie de reacciones que culminan con la reducción del CO_2 incluyen las reacciones tilacoidales y las reacciones de fijación del carbono.

Las **reacciones tilacoidales** de la fotosíntesis tienen lugar en las membranas internas de los cloroplastos denominadas tilacoides (véase el capítulo 1). Los productos finales de las reacciones de los tilacoides son compuestos de alta energía (ATP y NADPH) que son empleados en la síntesis de azúcares en las **reacciones de fijación del carbono**. Este proceso de síntesis tiene lugar en el estroma de los cloroplastos, la región acuosa que rodea los tilacoides. En este capítulo se analizan las reacciones fotosintéticas de los tilacoides; en el capítulo 8 se analizarán las reacciones de fijación del carbono.

En el cloroplasto, la energía luminosa es convertida en energía química a través de dos unidades funcionales diferentes denominadas fotosistemas. La energía luminosa absorbida es utilizada para dirigir la transferencia de electrones entre una serie de compuestos que actúan como dadores y aceptores de electrones. La mayor parte de los electrones acaban reduciendo el $NADP^+$ a NADPH y oxidando el H_2O a O_2. La energía luminosa es empleada también para generar una fuerza protón motriz (véase el capítulo 6) a través de la membrana de los tilacoides, que es utilizada para sintetizar ATP.

CONCEPTOS GENERALES

En esta sección desarrollaremos los conceptos esenciales que permitirán comprender la fotosíntesis. Entre ellos se incluye la naturaleza de la luz, las propiedades de los pigmentos y las diferentes funciones de estos pigmentos.

La luz tiene características de partícula y de onda

Uno de los descubrimientos más importantes de los físicos a principios del siglo XX fue que la luz tenía propiedades tanto de partícula como de onda. Una onda (Figura 7.1) se caracteriza por una **longitud de onda**, representada con la letra griega lambda (λ), que es la distancia que existe entre las crestas de dos ondas sucesivas. La **frecuencia**, representada por la letra griega nu (ν), es el número de crestas de onda que pasan por un punto en un tiempo dado. Una ecuación simple relaciona la longitud de onda, la frecuencia y la velocidad de cualquier onda:

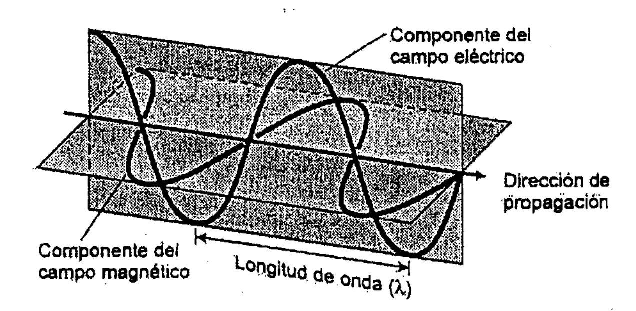


Figura 7.1 La luz es una onda electromagnética transversal, formada por campos eléctricos y magnéticos oscilantes perpendiculares entre sí y a la dirección de propagación de la luz. La luz se mueve a una velocidad de 3 x 10^8 m s^{-1}. La longitud de onda (λ) es la distancia entre dos crestas sucesivas de la onda.

$$c = \lambda \nu \qquad (7.1)$$

donde c es la velocidad de la onda, en este caso, la velocidad de la luz ($c = 3 \times 10^8$ m s^{-1}). La onda luminosa es una onda electromagnética transversal, en la que los campos eléctrico y magnético oscilan perpendicularmente a la dirección de propagación de la onda y son perpendiculares entre sí.

La luz también es una partícula, que denominamos **fotón**. Cada fotón contiene una cantidad determinada de energía que se denomina **cuanto**. La energía contenida en la luz no es un continuo, sino que se encuentra en unidades discretas, los cuantos. La energía (E) de un fotón depende de la frecuencia de la luz de acuerdo con la **ley de Pianck**:

$$E = h\nu \qquad (7.2)$$

donde h es la constante de Planck ($6{,}626 \times 10^{-34}$ J s).

La luz del sol se puede describir como una lluvia de fotones de diferentes frecuencias. Nuestros ojos son sensibles sólo a un pequeño rango de frecuencias, la región visible del espectro electromagnético (Figura 7.2). La luz de frecuencias ligeramente más altas (o longitudes de onda más cortas) está en la región ultravioleta del espectro y la luz de frecuencias ligeramente más bajas (o longitudes de onda más largas) está en la región del infrarrojo. La producción solar se muestra en la figura 7.3, junto a la densidad de energía que llega a la superficie terrestre. El espectro de absorción de la clorofila *a* (curva C de la figura 7.3) indica aproximadamente la proporción de la producción solar que es empleada por las plantas.

Un **espectro de absorción** muestra la cantidad de energía luminosa captada o absorbida por molécula o sustancia en función de la longitud de onda de la luz. El espectro de absorción de una sustancia determinada se puede determinar, mediante un

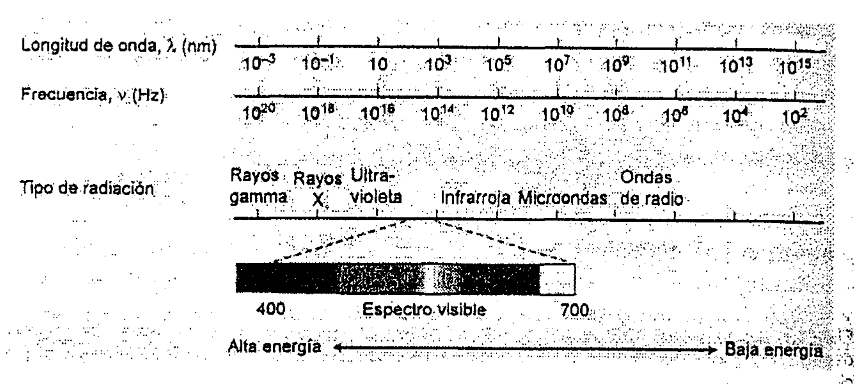


Figura 7.2 El espectro electromagnético. La longitud de onda (λ) y la frecuencia (ν) son inversamente proporcionales. Nuestros ojos son sensibles sólo a la radiación en una estrecha franja de longitudes de onda, la región visible, que se extiende desde unos 400 nm (violeta) hasta unos 700 nm (rojo). La luz de longitud de onda corta (alta frecuencia) tiene un alto contenido energético, mientras que la luz de longitud de onda larga (baja frecuencia) tiene un bajo contenido energético.

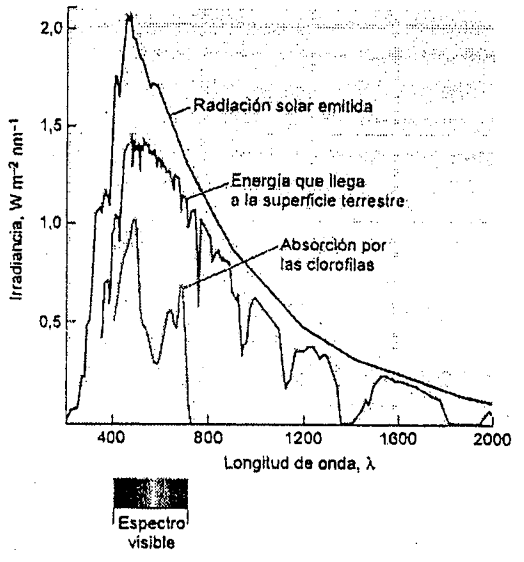


Figura 7.3 El espectro solar y su relación con el espectro de absorción de las clorofilas. La curva A muestra la energía que emite el sol en función de su longitud de onda. La curva **B** indica la energía que llega a la superficie terrestre. Los fuertes descensos en la región infrarroja por encima de los 700 nm son debidos a la absorción de energía solar por las moléculas de la atmósfera, principalmente el vapor de agua. La curva C muestra el espectro de absorción de las clorofilas, que absorben fuertemente en el azul (sobre 430 nm) y en el rojo (sobre 660 nm). Como la luz del verde, en la región media del visible, no es absorbida eficientemente, la mayor parte es reflejada hacia nuestros ojos, confiriendo a las plantas su color verde característico.

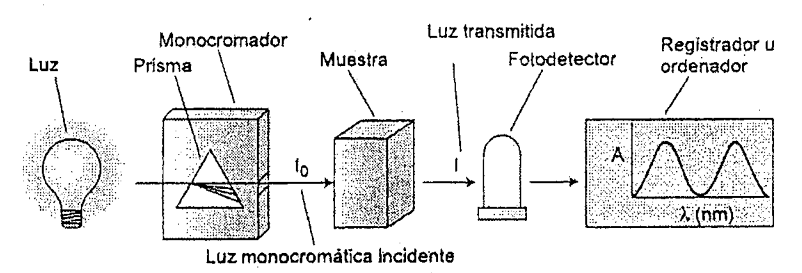


Figura 7.4 Esquema de un espectrofotómetro. Este aparato contiene una fuente de luz, un monocromador que tiene un dispositivo para seleccionar la longitud de onda (un prisma), un recipiente para la muestra, un fotodetector y un registrador u ordenador. La longitud de onda del monocromador puede cambiarse rotando el prisma; el gráfico de absorbancia (A) frente a longitud de onda (λ) se denomina espectro.

espectrofotómetro, empleando un solvente que no absorba la luz, como se muestra en la figura 7.4. La espectrofotometría, técnica utilizada para medir la absorción de luz por una muestra, se analiza con detalle en el **tema web 7.1**.

Las moléculas cambian su estado electrónico cuando absorben o emiten energía

La clorofila la vemos de color verde porque absorbe principalmente en las regiones del rojo y del azul del espectro, de forma que sólo parte de la luz enriquecida en longitudes de onda verde (unos 550 nm) es reflejada a nuestros ojos (véase la figura 7.3).

La absorción de luz se representa mediante la ecuación 7.3, en la que la clorofila (Chl) en su estado de mínima energía, o estado fundamental, absorbe un fotón (representado por hν) y se produce la transición a un estado de mayor energía o estado excitado (Chl*):

$$\text{Chl} + h\nu \rightarrow \text{Chl}^* \qquad (7.3)$$

La distribución de electrones en la molécula excitada es distinta de la distribución en la molécula en el estado fundamental (Figura 7.5). La absorción de luz del azul excita la clorofila a un estado de mayor energía que la absorción de luz del rojo porque la energía de los fotones es mayor cuanto menor es su longitud de onda. En este estado excitado superior, la clorofila es altamente inestable y rápidamente cede parte de su energía a su entorno en forma de calor, pasando a un estado excitado de menor energía, donde puede mantenerse estable durante algunos nanosegundos (como máximo 10^{-9} s). Debido a esta inestabilidad del estado excitado, cualquier proceso de captura de energía ha de ser extremadamente rápido.

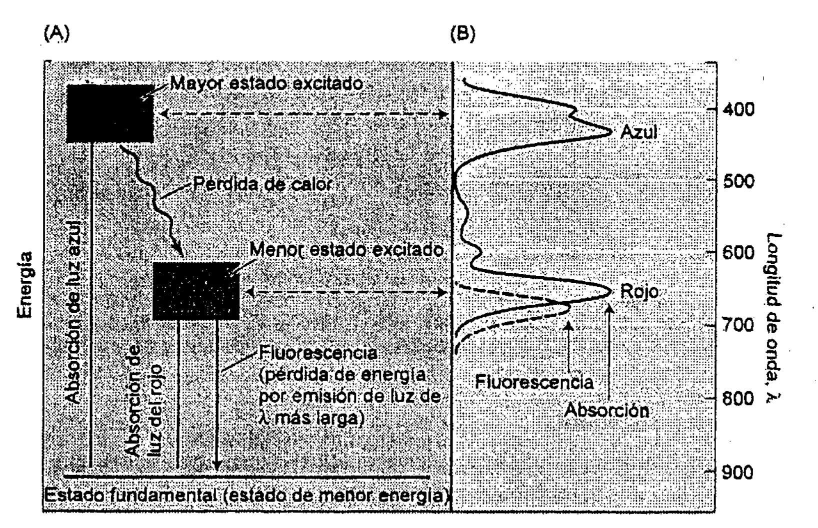


Figura 7.5 Absorción y emisión de luz por la clorofila. (A) Diagrama de niveles de energía. La absorción o emisión de luz se indica con líneas verticales que conectan el estado fundamental con los estados electrónicos excitados. Las bandas de absorción del azul y del rojo de las clorofilas (que absorben fotones del rojo y del azul, respectivamente) se corresponden con las flechas verticales que señalan hacia arriba, indicando que la energía absorbida de la luz provoca el cambio en la molécula desde el estado fundamental al estado excitado. La flecha que señala hacia abajo indica fluorescencia, por la que la molécula retorna desde el estado excitado más bajo al estado fundamental, reemitiendo energía en forma de un fotón. (B) Espectros de absorción y de fluorescencia. La banda de absorción de longitud de onda larga (rojo) de la clorofila corresponde a la luz con la energía necesaria para provocar la transición desde el estado fundamental al primer estado excitado. La banda de absorción de longitud de onda corta (azul) corresponde a la transición a un estado excitado superior.

En el estado de menor energía, la clorofila excitada tiene cuatro rutas alternativas para dispersar la energía disponible.

1. La clorofila excitada puede reemitir un fotón y así volver al estado fundamental por un proceso conocido como **fluorescencia**. Cuando esto ocurre, la longitud de onda fluorescente es ligeramente más larga (y de menor energía) que la longitud de onda de absorción porque parte de la energía de excitación se ha convertido en calor antes de que el fotón sea emitido por fluorescencia. Las clorofilas emiten fluorescencia en la región del rojo del espectro.
2. La clorofila excitada puede volver al estado fundamental por conversión de su energía de excitación en calor, sin emitir un fotón.
3. La clorofila excitada puede ceder su energía a otra molécula por **transferencia de energía**.
4. Un cuarto proceso es el **fotoquímico**, en el que la energía del estado excitado es empleada para realizar reacciones químicas. Entre las reacciones químicas

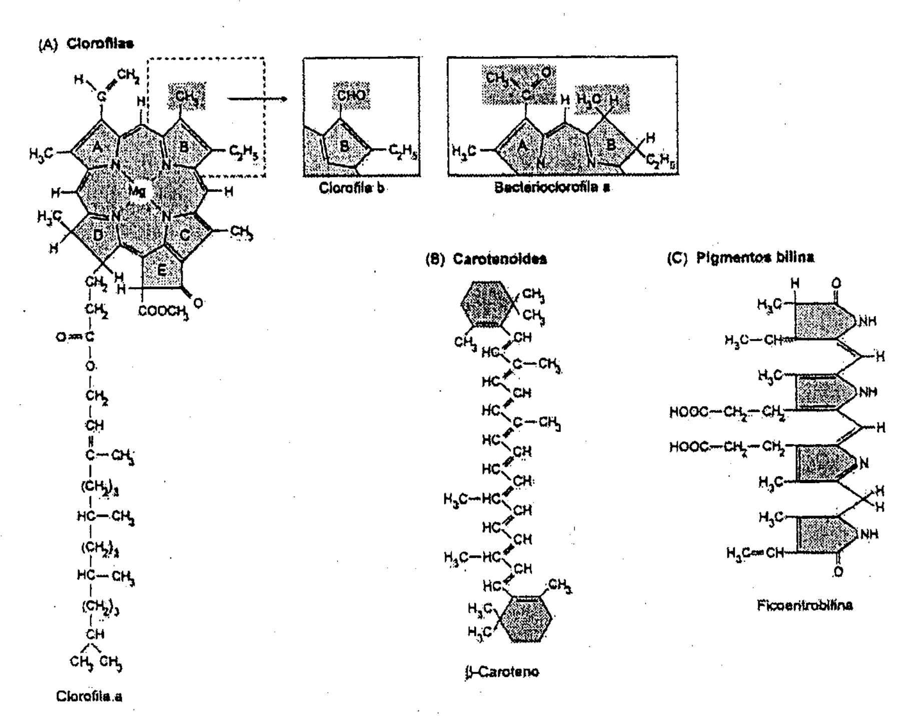


Figura 7.6 Estructura molecular de algunos pigmentos fotosintéticos. (A) La estructura de las clorofilas contiene un anillo tipo porfirina con un átomo de magnesio (Mg) coordinado en el centro y una larga cola hidrocarbonada hidrofóbica que las ancla a la membrana fotosintética. El anillo tipo porfirina es el sitio donde se producen los reordenamientos electrónicos cuando la clorofila es excitada, y del par de electrones desapareados cuando es oxidada o reducida. Las clorofilas se diferencian principalmente en los sustituyentes del anillo y en el patrón de dobles enlaces. (B) Los carotenoides son polienos lineales que sirven tanto de pigmentos antena como de agentes fotoprotectores. (C) Las bilinas son tetrapirroles de cadena abierta que se encuentran en las estructuras de las antenas conocidas como ficobilisomas, presentes en cianobacterias y algas rojas.

más rápidas conocidas se encuentran las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis. Esta velocidad extrema es necesaria para que la reacción fotoquímica pueda competir con las otras reacciones posibles.

Los pigmentos fotosintéticos absorben la luz que dirige la fotosíntesis

La energía del sol es absorbida inicialmente por los pigmentos de la planta. Todos los pigmentos activos en la fotosíntesis se encuentran en los cloroplastos. En las figuras 7.6 y 7.7 se muestran las estructuras y los espectros de absorción de varios pig-

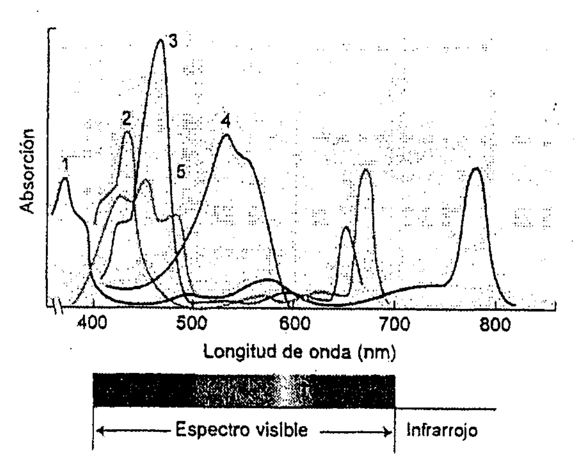


Figura 7.7 Espectro de absorción de algunos pigmentos fotosintéticos. Curva 1, bacterioclorofila *a*; curva 2, clorofila *a*; curva 3, clorofila *b*; curva 4, ficoeritrobilina; curva 5, β-caroteno. Los espectros de absorción mostrados pertenecen a pigmentos puros disueltos en solventes no polares, excepto la curva 4, que representa la ficoeritrina en un tampón acuoso, una proteína de cianobacterias que contiene un cromóforo de ficoeritrobilina covalentemente unido a la cadena peptídica. En muchos casos, los espectros de los pigmentos fotosintéticos *in vivo* están sustancialmente afectados por el entorno de la membrana fotosintética en que se encuentran. (Según Avers 1985).

mentos fotosintéticos. Clorofilas y bacterioclorofilas (pigmentos que se han encontrado en ciertas bacterias) son los pigmentos típicos de los organismos fotosintéticos, aunque todos contienen una mezcla de más de una clase de pigmentos, cada uno con una función específica.

Las clorofilas *a* y *b* son abundantes en las plantas verdes, y las *c* y *d* se encuentran en algunos protistas y cianobacterias. Se han encontrado un gran número de tipos de bacterioclorofilas; la del tipo *a* es la más extensamente distribuida. El **tema web 7.2** muestra la distribución de pigmentos en diferentes tipos de organismos fotosintéticos.

Todas las clorofilas están formadas por un anillo de estructura compleja, químicamente similar a las porfirinas presentes en hemoglobina y citocromos (véase la figura 7.6A). Además, suelen tener una larga cadena hidrocarbonada unida a la estructura del anillo. Esta cola ancla la clorofila a la parte hidrofóbica de su entorno. El anillo contiene algunos electrones deslocalizados y es la parte de la molécula implicada en las transiciones electrónicas y en las reacciones redox.

Los diferentes tipos de **carotenoides** que se encuentran en los organismos fotosintéticos son moléculas lineales con múltiples dobles enlaces conjugados (véase la figura 7.6B). Las bandas de absorción en la región entre 400 y 500 nm, le confieren a los carotenoides su característico color naranja. El color de las zanahorias, por ejemplo, es debido al carotenoide β-caroteno, cuya estructura y espectro de absorción se muestra en las figuras 7.6 y 7.7, respectivamente.



Los carotenoides se encuentran en todos los organismos fotosintéticos, excepto en mutantes incapaces de vivir fuera del laboratorio. Los carotenoides son constituyentes integrales de la membrana de los tilacoides y están íntimamente asociados a las proteínas del complejo antena y del centro de reacción. La luz absorbida por los carotenoides es rápidamente transferida a las clorofilas para la fotosíntesis, por lo que a los carotenoides se les conoce como **pigmentos auxiliares**.

EXPERIMENTOS CLAVE EN LA COMPRENSIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS

El establecimiento de la ecuación global de la fotosíntesis ha requerido varios cientos de años y la contribución de muchos científicos (las referencias de los descubrimientos históricos se pueden encontrar en la página web). En 1771, Joseph Priestly observó que una espiga de menta que crecía en aire en el que se había quemado una vela mejoraba el aire, de modo que otra vela podía arder. Había descubierto la producción de oxígeno por las plantas. Un holandés, Jan Ingenhousz, determinó el papel esencial de la luz en la fotosíntesis en 1779.

Otros científicos establecieron las funciones del CO_2 y del H_2O, y mostraron que la materia orgánica, concretamente los carbohidratos, junto con el oxígeno, son los productos de la fotosíntesis. A finales del siglo diecinueve, la reacción global equilibrada para la fotosíntesis ya se podía describir como:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O \xrightarrow{\text{Luz, planta}} C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \qquad (7.4)$$

donde $C_6H_{12}O_6$ representa un azúcar simple como la glucosa. Como analizaremos en el capítulo 8, la glucosa no es un producto real de las reacciones de fijación de carbono. Sin embargo, las reacciones energéticas para los productos reales son aproximadamente las mismas, de ahí que el uso de la glucosa en la ecuación 7.4 se acepta por convenio, aunque no debe seguirse literalmente.

Las reacciones químicas de la fotosíntesis son complejas. De hecho, se han identificado al menos 50 reacciones intermedias y posiblemente quedan aún pasos adicionales por descubrir. Una de las primeras pistas sobre la naturaleza química del proceso básico surgió de las investigaciones realizadas sobre 1920 en bacterias fotosintéticas que no generaban oxígeno como producto final. De los estudios de estas bacterias, C. B. Niel concluyó que la fotosíntesis era, en esencia, un proceso redox (reducción-oxidación). Esta conclusión ha sido confirmada y se convirtió en el concepto fundamental en el que se han basado todas las investigaciones posteriores sobre fotosíntesis.

Volvamos ahora a las relaciones entre la actividad fotosintética y el espectro de la luz absorbida. Analizaremos algunos de los experimentos clave que han contribuido a los conocimientos actuales de la fotosíntesis y consideraremos las ecuaciones de las reacciones químicas fundamentales de la fotosíntesis.

El espectro de acción relaciona el espectro de absorción y la actividad fotosintética

El uso del espectro de acción ha tenido un papel fundamental en el desarrollo de nuestro conocimiento actual de la fotosíntesis. Un espectro de acción representa la respuesta de un sistema biológico a la luz, en función de su longitud de onda. Por ejemplo se puede construir un espectro de acción para la fotosíntesis a partir de la producción de oxígeno a diferentes longitudes de onda (Figura 7.8). Con frecuencia, un espectro de acción permite identificar el cromóforo (pigmento) responsable de un determinado fenómeno inducido por la luz.

Algunos de los primeros espectros de acción fueron medidos por T. W. Engelmann a finales del siglo XIX (Figura 7.9). Engelmann empleó un prisma para dispersar la

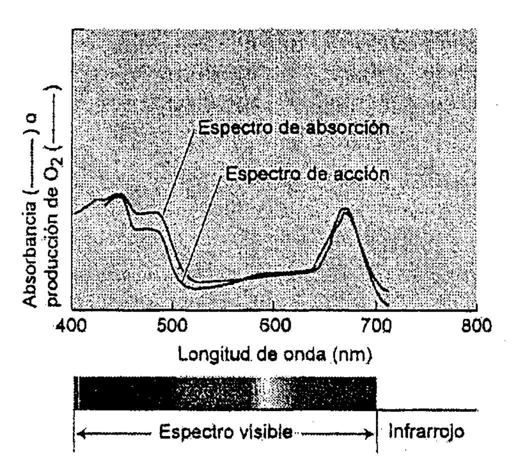


Figura 7.8 Comparación de los espectros de absorción y acción. El espectro de absorción se mide como muestra la figura 7.4. Un espectro de acción se mide representando una respuesta a la luz, por ejemplo, la tasa de producción de oxígeno, en función de la longitud de onda. Si los pigmentos empleados para obtener el espectro de absorción son los mismos que los que provocan la respuesta, los espectros de acción y de absorción coincidirán. En el ejemplo mostrado aquí, el espectro de acción para la producción de oxígeno coincide bastante bien con el espectro de absorción de cloroplastos intactos, indicando que la absorción de la luz por las clorofilas está implicada en la producción de oxígeno. Las discrepancias que se encuentran en la región de absorción de los carotenoides, entre 450 y 550 nm, indican que la transferencia de energía desde los carotenoides a las clorofilas no es tan efectiva como entre clorofilas.

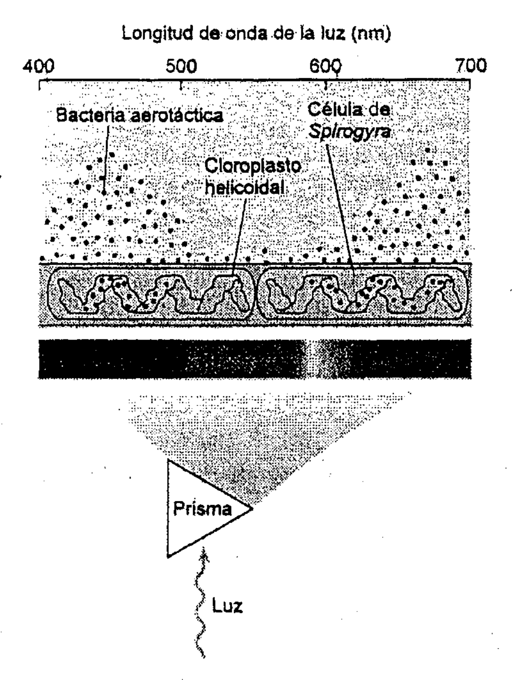


Figura 7.9 Esquema del espectro de acción medido por T. W. Engelmann. Este investigador proyectó un espectro de luz sobre los cloroplastos helicoidales del alga verde filamentosa *Spirogyra*, y observó que la bacteria aerobia introducida en el sistema se concentraba en las regiones del espectro en la que absorben los pigmentos de los cloroplastos. Este espectro de acción dio las primeras evidencias de la efectividad de la luz absorbida por los pigmentos auxiliares para dirigir la fotosíntesis.

luz del sol en un arco iris que hacía incidir sobre un alga acuática filamentosa. Introdujo en el sistema una población de bacterias con requerimiento de O_2. Las bacterias se acumularon en las regiones de los filamentos que producían la mayor parte del O_2. Éstas fueron las regiones iluminadas con luz del azul y luz del rojo, fuertemente absorbidas por la clorofila. Hoy en día, se puede medir un espectro de acción con espectrógrafos del tamaño de una habitación, en los cuales un inmenso monocromador irradia las muestras experimentales con luz monocromática. El principio de estos experimentos es, sin embargo, el mismo que el de los experimentos de Engelmann.

Los espectros de acción fueron muy importantes para el descubrimiento de la existencia de dos fotosistemas diferentes que operan conjuntamente en los organismos fotosintéticos productores de O_2. Antes de pasar a estudiar los dos fotosistemas, no obstante, necesitamos describir los complejos antena que captan la luz y las necesidades energéticas de la fotosíntesis.

La fotosíntesis tiene lugar en complejos antena que captan la luz y en centros de reacción fotoquímicos

Una parte de la energía luminosa absorbida por las clorofilas y carotenoides se almacena finalmente como energía química a través de la formación de enlaces químicos. Esta conversión de energía de una forma a otra es un proceso complejo que depende de la cooperación entre varios pigmentos y un grupo de proteínas de transferencia de electrones.

La mayoría de los pigmentos actúan en un **complejo antena**, captando la luz y transfiriendo la energía al **complejo del centro de reacción**, donde tienen lugar las reacciones químicas de oxidación y reducción que permitirán el almacenamiento del energía a largo plazo (Figura 7.10). Las estructuras moleculares de algunos de los complejos antena y de los centros de reacción se analizarán más adelante en este capítulo.

¿Cómo se beneficia la planta de esta división de trabajo entre los pigmentos del complejo antena y el centro de reacción? Incluso a plena luz de sol, la clorofila sólo puede absorber unos pocos fotones por segundo. Si cada clorofila tuviera un centro de reacción completo asociado a ella, los enzimas que hacen funcionar el sistema estarían parados la mayor parte del tiempo, activándose sólo ocasionalmente tras la absorción de un fotón. Sin embargo, si un gran número de pigmentos pueden enviar energía a un mismo centro de reacción, el sistema permanece activo la mayor parte del tiempo.

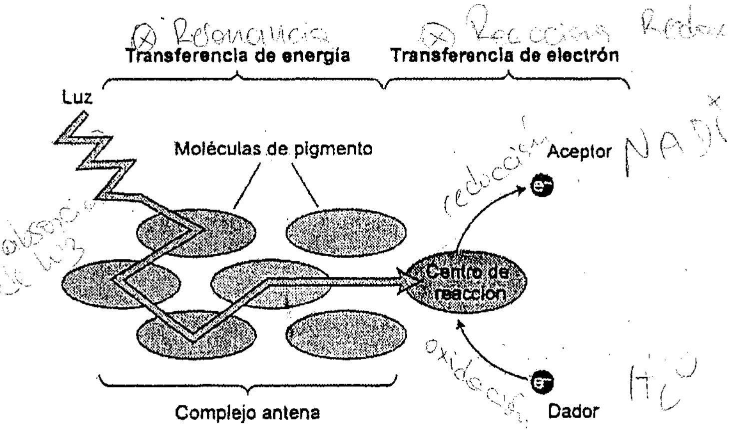


Figura 7.10 El concepto básico de transferencia de energía durante la fotosíntesis. Un gran número de pigmentos asociados sirven como antena, recogiendo la luz y transfiriendo su energía al centro de reacción, donde las reacciones químicas almacenan parte de la energía transfiriendo electrones desde una clorofila a una molécula aceptora de electrones. Un dador de electrones reduce entonces de nuevo la clorofila. La transferencia de energía en la antena es un fenómeno puramente físico y no implica ningún cambio químico.

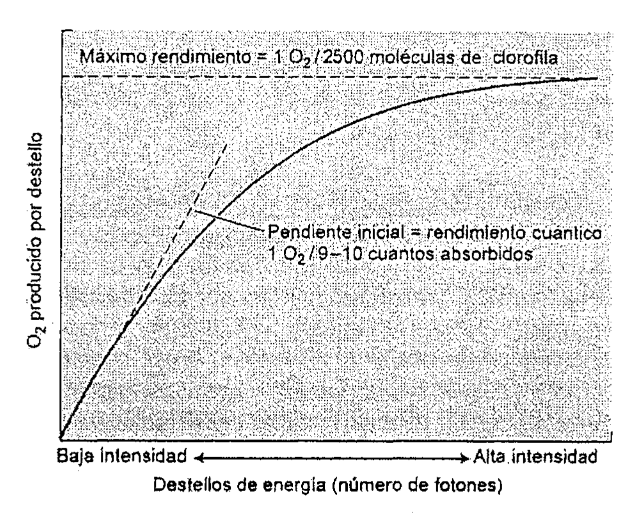


Figura 7.11 La primera evidencia de la interacción entre los pigmentos antena y el centro de reacción fue la relación entre la producción de oxígeno y la energía del destello o pulso. A energías saturantes, la cantidad máxima de O_2 producida es de 1 molécula de O_2 por cada 2500 moléculas de clorofila.

En 1932, Robert Emerson y William Arnold llevaron a cabo un experimento clave que proporcionó la primera evidencia de la cooperación de muchas moléculas de clorofila en la conversión de energía durante la fotosíntesis. Iluminaron con destellos de luz muy breves (de 10^{-5} s) una suspensión del alga verde *Chlorella pyrenoidosa* y midieron la cantidad de oxígeno producido. Los destellos se espaciaron 0,1 s, un tiempo que Emerson y Arnold habían determinado en anteriores trabajos como suficientemente largo para que se completaran los pasos enzimáticos del proceso antes de la llegada de un nuevo destello. Los investigadores variaron la energía de los destellos y encontraron que a altas energías la producción de oxígeno no aumentaba cuando se daba un destello más intenso: el sistema fotosintético estaba saturado por la luz (Figura 7.11).

En las medidas de la relación entre la producción de oxígeno y la energía del destello, Emerson y Arnold se sorprendieron al encontrar que, en condiciones saturantes, sólo se producía una molécula de oxígeno por cada 2500 moléculas de clorofila en la muestra. En la actualidad sabemos que varios cientos de pigmentos se asocian a cada centro de reacción y que cada centro de reacción debe actuar cuatro veces para producir una molécula de oxígeno, de ahí el valor de 2500 moléculas de clorofila por O_2.

Los centros de reacción y la mayoría de los complejos antena son componentes integrales de la membrana fotosintética. En los organismos eucariotas fotosintéticos, estas membranas se encuentran en el cloroplasto; en los procariotas fotosintéticos, el lugar de fotosíntesis es la membrana plasmática o membranas derivadas de ella.

El gráfico de la figura 7.11 permite calcular otro parámetro importante en las reacciones luminosas de la fotosíntesis, el rendimiento cuántico. **El rendimiento cuántico** de la fotosíntesis (Φ) se define como:

$$\Phi = \frac{\text{Número de productos fotoquímicos}}{\text{Número total de cuantos absorbidos}} \quad (7.5)$$

En la parte lineal de la curva (baja intensidad de luz), un aumento del número de fotones estimula un aumento proporcional en la formación de oxígeno. Así, la pendiente de la curva mide el rendimiento cuántico de la producción de oxígeno. El rendimiento cuántico de un proceso determinado puede variar entre 0 (si el proceso no responde a la luz) y 1 (si cada fotón absorbido contribuye al proceso). En el **tema web 7.3** se muestra un análisis más detallado del rendimiento cuántico.

En cloroplastos funcionales mantenidos con luz débil, el rendimiento cuántico fotoquímico es aproximadamente 0,95; el rendimiento cuántico de la fluorescencia es menor o igual a 0,05; y el rendimiento cuántico de otros procesos es despreciable. Por tanto, la mayoría de moléculas de clorofila excitadas siguen la vía fotoquímica.

Las reacciones químicas de la fotosíntesis están dirigidas por la luz

Es importante recordar que el equilibrio de la reacción química de la ecuación 7.4 está muy desplazado hacia los reactivos. La constante de equilibrio de la ecuación 7.4, calculada a partir de las energías libres de formación tabuladas para cada uno de los compuestos implicados, es de 10^{-500}. Este número es tan próximo a cero que hace imposible que en la historia entera del universo se hubiera formado una molécula de glucosa espontáneamente a partir de H_2O y CO_2 sin un aporte externo de energía. La energía necesaria para llevar a cabo las reacciones fotosintéticas procede de la luz. La forma más simple de la ecuación 7.4 es:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Luz, planta}} (CH_2O) + O_2 \quad (7.6)$$

donde (CH_2O) es una sexta parte de una molécula de glucosa. Se necesitan 9 ó 10 fotones de luz para llevar a cabo la reacción de la ecuación 7.6.

Aunque el rendimiento cuántico fotoquímico en condiciones óptimas está cerca del 100%, la *eficiencia* de la conversión de la luz en energía química es mucho menor. Si se absorbe luz del rojo de 680 nm, la energía aportada (véase la ecuación 7.2) es de 1760 KJ por mol de oxígeno formado. Esta cantidad de energía es más que suficiente para dirigir la reacción de la ecuación 7.6, cuyo incremento en energía li-

bre estándar es de +467 KJ mol^{-1}. La eficiencia de la conversión de la energía luminosa a la longitud de onda óptima en energía química es de un 27%, un valor alto para un sistema de conversión de energía. La mayor parte de esta energía almacenada se utiliza en procesos de mantenimiento celular; siendo mucho menor la destinada a la formación de biomasa (véase la figura 9.2).

El hecho que la eficiencia cuántica fotoquímica (rendimiento cuántico) sea cercana a 1 (100%) y la eficiencia de la conversión de energía sea sólo del 27% no supone ningún problema. La *eficiencia cuántica* es una medida de la fracción de fotones absorbidos que siguen la vía fotoquímica; la *eficiencia de la energía* es una medida de cuánta energía de los fotones absorbidos es almacenada como productos químicos. Los números indican que casi todos los fotones absorbidos son empleados fotoquímicamente, aunque sólo una cuarta parte de la energía de cada fotón es almacenada, siendo el resto transformada en calor.

La luz dirige la reducción de NADP y la formación de ATP

El proceso global de la fotosíntesis es una reacción redox, en la que los electrones son cedidos por unas especies químicas, que se oxidan, y son transferidos a otras especies, que se reducen. En 1937, Robert Hill encontró que, en presencia de luz, los tilacoides de cloroplastos aislados eran capaces de reducir varios compuestos, como las sales de hierro. Estos compuestos actuarían como oxidantes, en lugar del CO_2, como muestra la siguiente ecuación:

$$4\,Fe^{3+} + 2\,H_2O \rightarrow 4\,Fe^{2+} + O_2 + 4\,H^+ \quad (7.7)$$

Desde entonces se han encontrado numerosos compuestos que actúan como aceptores artificiales de electrones y la reacción anterior se conoce como reacción de Hill. Su uso ha sido de gran valor en el descubrimiento de las reacciones que preceden a la reducción del carbono.

En la actualidad sabemos que durante el funcionamiento normal del sistema fotosintético, la luz reduce nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) que, a su vez, actúa como agente reductor para la fijación del carbono en el ciclo de Calvin (véase el capítulo 8). El flujo de electrones desde el agua al NADP también está acoplado a la síntesis de ATP, empleado en la reducción del carbono.

Las reacciones químicas por las que el agua se oxida a oxígeno, el NADP se reduce y se forma ATP, se conocen como las *reacciones de los tilacoides*, porque casi todas las reacciones que conducen a la reducción del NADP tienen lugar en los tilacoides. Las reacciones de fijación y reducción del carbono se denominan *reacciones del estroma* porque las reacciones de reducción del carbono se producen en la

región acuosa del cloroplasto, el estroma. Aunque esta división es arbitraria, conceptualmente es útil.

Los organismos productores de oxígeno tienen dos fotosistemas que actúan en serie

A finales de 1950s, una serie de experimentos confundían a los científicos que estudiaban la fotosíntesis. Uno de estos experimentos realizado por Emerson medía el rendimiento cuántico de la fotosíntesis en función de la longitud de onda y reveló un efecto llamado la caída del rojo (Figura 7.12).

Si se mide el rendimiento cuántico para las longitudes de onda en que la clorofila absorbe luz, los valores encontrados en este rango son bastante constantes, indicando que cualquier fotón absorbido por la clorofila u otros pigmentos es igualmente efectivo en la fotosíntesis. Sin embargo, el rendimiento cuántico cae drásticamente en la región del rojo lejano del espectro de absorción de la clorofila (mayor de 680 nm).

Esta caída no puede ser debida a un descenso en la absorción de la clorofila porque el rendimiento cuántico sólo mide la luz que ha sido absorbida. Así, la luz con una longitud de onda mayor de 680 nm es mucho menos eficiente que la luz de longitud de onda menor.

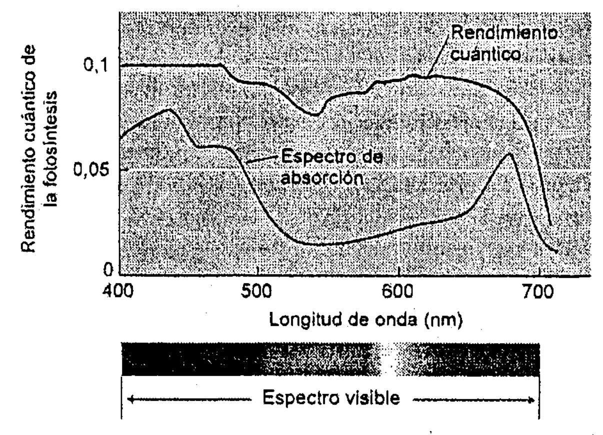


Figura 7.12 El efecto de la caída del rojo. El rendimiento cuántico de la fotosíntesis (curva negra) cae drásticamente para la luz del rojo lejano de longitudes de onda mayores a 680 nm, indicando que la luz del rojo lejano sola no es eficiente para dirigir la fotosíntesis. La ligera caída cerca de los 500 nm es debida a la menor eficiencia de la fotosíntesis cuando la luz es absorbida por los pigmentos auxiliares, los carotenoides.

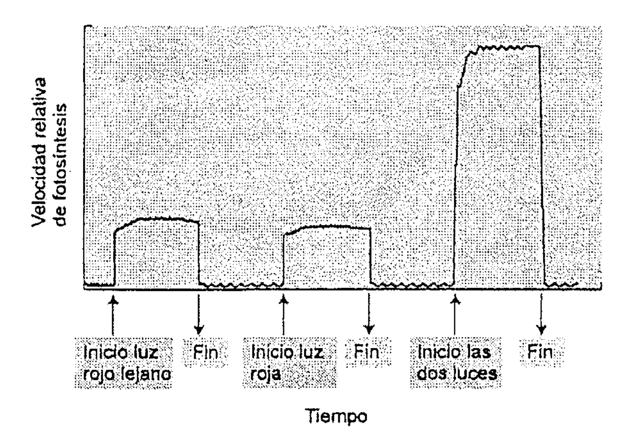


Figura 7.13 El efecto acumulativo. La tasa de fotosíntesis cuando se irradia conjuntamente con luz del rojo y del rojo lejano es mayor que la suma de las tasas cuando se irradian por separado. El efecto acumulativo proporcionó una evidencia fundamental a favor de que la fotosíntesis es llevada a cabo por dos fotosistemas que trabajan asociados, aunque con ligeras diferencias en las longitudes de onda óptimas.

Otro resultado experimental desconcertante fue el «**efecto acumulativo**» descubierto también por Emerson. Midió la tasa fotosíntética con luz de dos longitudes de onda distintas, asó como con los dos simultáneamente (Figura 7.13). Cuando se irradiaban juntas la luz del rojo y la del rojo lejano, la tasa fotosintética era mucho mayor que la suma de las dos tasas individuales.

Estos sorprendentes resultados fueron explicados posteriormente en experimentos llevados a cabo en los años 1960s (véase el **tema web 7.4**) y que condujeron al descubrimiento de dos complejos fotoquímicos, conocidos hoy en día como **fotosistemas I** y **II (PSI y PSII)**, que actúan en serie para llevar a cabo las reacciones iniciales de almacenamiento de energía de la fotosíntesis.

El fotosistema I absorbe preferentemente luz del rojo lejano de longitudes de onda mayores de 680 nm; el fotosistema II absorbe preferentemente luz del rojo de 680 nm y funciona deficientemente a longitudes de onda del rojo lejano. Esta dependencia de la longitud de onda explica el efecto acumulativo y el efecto de la caída del rojo. Otra diferencia entre los fotosistemas es que

- El fotosistema I produce un reductor fuerte, capaz de reducir el $NADP^+$, y un oxidante débil.
- El fotosistema II produce un oxidante muy fuerte, capaz de oxidar al agua, y un reductor más débil que el producido por el fotosistema I.

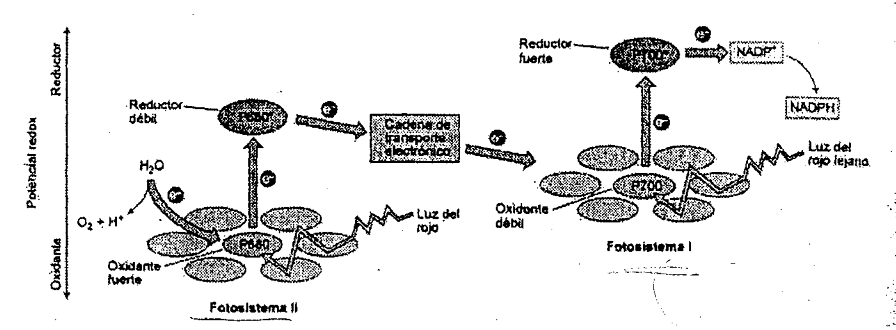


Figura 7.14 El esquema en Z de la fotosíntesis. La luz del rojo absorbida por el fotosistema II (PSII) produce un oxidante fuerte y un reductor débil. La luz del rojo lejano absorbida por el fotosistema I (PSI) produce un oxidante débil y un reductor fuerte. El oxidante fuerte generado por el PSII oxida al agua, mientras que el reductor fuerte producido por el PSI reduce el $NADP^+$. Este esquema es básico para comprender el transporte electrónico de la fotosíntesis. P680 y P700 se refieren a las longitudes de onda de máxima absorción de las clorofilas del centro de reacción en el PSII y PSI, respectivamente.

El reductor producido por el fotosistema II vuelve a reducir el oxidante producido por el fotosistema I. Estas propiedades de los dos fotosistemas se muestran esquemáticamente en la figura 7.14.

El esquema de la fotosíntesis descrito en la figura 7.14, conocido como *esquema en Z* (por el zig-zag), se ha convertido en la base para comprender los organismos fotosintéticos generadores de oxígeno. Este esquema incluye la acción de los dos fotosistemas (I y II), física y químicamente diferentes, cada uno con sus propios pigmentos antena y su centro de reacción fotoquímico. Los dos fotosistemas están unidos por una cadena de transporte electrónico.

ORGANIZACIÓN DEL APARATO FOTOSINTÉTICO

En la sección anterior explicamos algunos de los principios físicos del proceso fotosintético, algunos aspectos de los papeles funcionales de varios pigmentos y algunas de las reacciones llevadas a cabo por los organismos fotosintéticos. Volvamos ahora a la arquitectura del aparato fotosintético y a la estructura de sus componentes.

La fotosíntesis se realiza en el cloroplasto

En los organismos eucariotas fotosintéticos, la fotosíntesis tiene lugar en un orgánulo subcelular conocido como cloroplasto. La figura 7.15 muestra una micro-

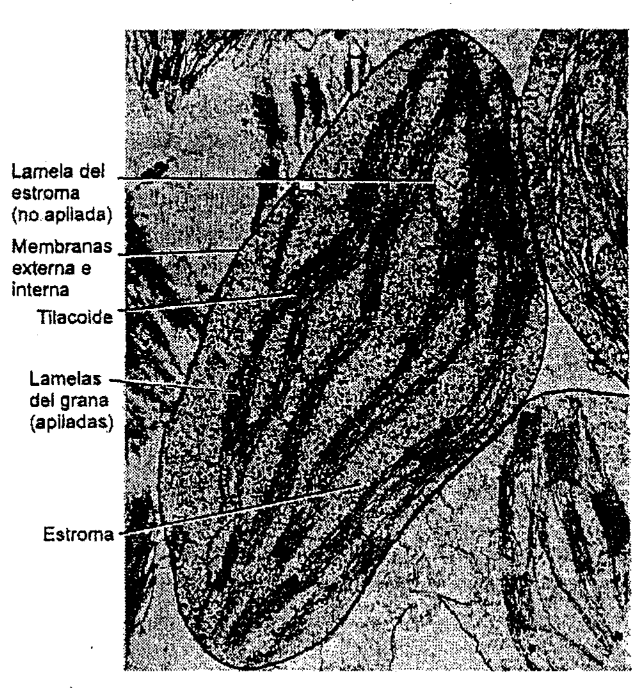


Figura 7.15 Micrografía electrónica de transmisión de un cloroplasto de guisante (*Pisum sativum*), fijado en glutaraldehído y OsO_4, embebido en resina plástica y seccionado finamente con un ultramicrotomo (14.500x). (Cortesía de J. Swafford).

grafía electrónica de transmisión de una sección fina de un cloroplasto de guisante. Lo más característico de la estructura del cloroplasto es el extenso sistema de membranas internas llamados **tilacoides**. Toda la clorofila se encuentra en este sistema de membranas, donde tienen lugar las reacciones luminosas de la fotosíntesis.

Las reacciones de reducción del carbono, catalizadas por enzimas hidrosolubles, tienen lugar en el **estroma**, la región del cloroplasto que rodea los tilacoides. La mayoría de los tilacoides están estrechamente asociados entre sí. Los tilacoides apilados se denominan **grana** y las membranas no apiladas se conocen como **lamelas del estroma.**

La mayoría de los diferentes tipos de cloroplastos están rodeados por dos membranas separadas, cada una de las cuales es una bicapa lipídica, que juntas se conocen como **envoltura** (Figura 7.16). Este sistema de doble membrana contiene varios sistemas de transporte de metabolitos. Los cloroplastos, además, contienen su propio DNA, RNA y ribosomas. Muchas de las proteínas del cloroplasto son producto de la transcripción y traducción en el propio cloroplasto, mientras otras son codificadas por el DNA nuclear, sintetizadas por ribosomas citoplasmáticos e incorporadas

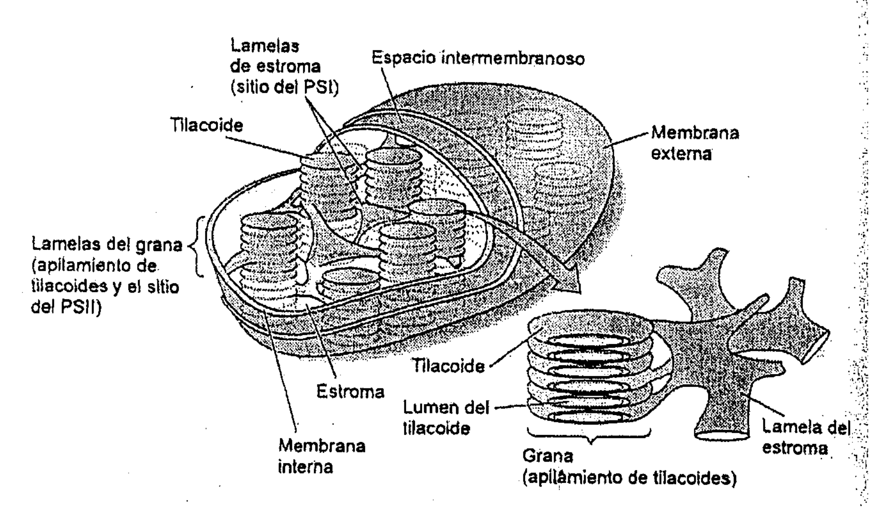


Figura 7.16 Dibujo esquemático de la organización global de las membranas en el cloroplasto. En plantas superiores, el cloroplasto está rodeado por una membrana interna y una externa. La región del cloroplasto que está dentro de la membrana interna y rodea las membranas de los tilacoides se conoce como estroma. Éste contiene los enzimas que catalizan la fijación del carbono y otras rutas biosintéticas. Las membranas de los tilacoides están fuertemente plegadas y en muchos dibujos parecen estar apiladas como monedas, aunque en realidad forman uno o unos pocos sistemas de membranas interconectados, con un interior y un exterior bien definidos respecto del estroma. El espacio interior de la membrana de los tilacoides se conoce como lumen. (Según Beker 1986).

finalmente al cloroplasto. Esta distinción de funciones singular, extensible en muchos casos a subunidades diferentes del mismo complejo enzimático se analizará con detalle más adelante en este mismo capítulo. En el **ensayo web 7.1** se encuentran algunas estructuras dinámicas de cloroplastos.

Los tilacoides contienen proteínas integrales de membrana

En la membrana del tilacoide se encuentran embebidas una amplia variedad de proteínas esenciales para la fotosíntesis. En muchos casos, partes de estas proteínas se extienden a las regiones acuosas de ambos lados del tilacoide. Estas **proteínas integrales de membrana** contienen una gran proporción de aminoácidos hidrofóbicos, por lo que son mucho más estables en un medio no acuoso, como la parte hidrocarbonada de la membrana (véase la figura 1.5A).

Los centros de reacción, los complejos proteína-pigmento de las antenas y la mayoría de los enzimas de transporte electrónico son proteínas integrales de membrana. En todos los casos estudiados, las proteínas integrales de membrana del cloroplasto tienen una única orientación en la membrana. Las proteínas de la membrana del tilacoide poseen una región orientada hacia el lado del estroma y otra hacia la región interior del tilacoide, conocida como *lumen* (véanse las figuras 7.16 y 7.17).

Las clorofilas y los pigmentos accesorios que captan la luz en la membrana de los tilacoides están siempre asociados no covalentemente, aunque de forma muy específica a proteínas. Tanto las clorofilas del complejo antena como las de los centros de reacción están asociadas a proteínas que están organizadas en la membrana para optimizar la transferencia de energía en los complejos antena y la transferencia de electrones en los centros de reacción, minimizando al mismo tiempo las pérdidas del proceso.

Los fotosistemas I y II están espacialmente separados en la membrana del tilacoide

El centro de reacción del fotosistema II (PSII), junto con sus clorofilas del complejo antena y proteínas asociadas de transporte electrónico, está localizado preferentemente en los grana (Figura 7.18) (Allen y Forsberg 2001).

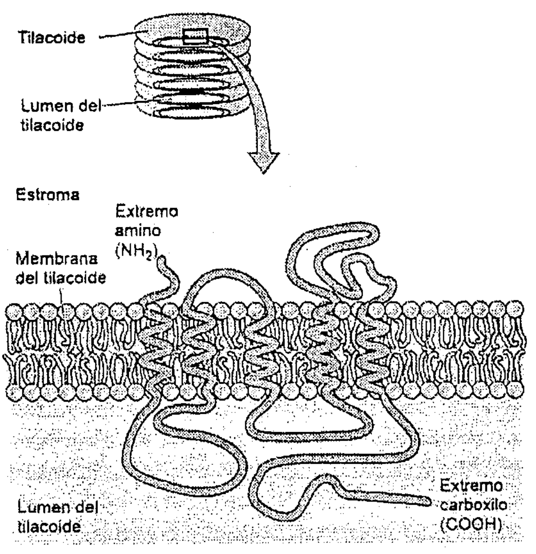


Figura 7.17 Predicción del patrón de plegamiento de la proteína D1 del centro de reacción del PSII. La parte hidrofóbica de la membrana es atravesada cinco veces por la cadena peptídica rica en aminoácidos hidrofóbicos. La proteína está organizada asimétricamente en la membrana de los tilacoides, con el extremo amino (NH_2) en el lado del estroma de la membrana y el extremo carboxilo (COOH) en el lado del lumen. (Según Trebst 1986).

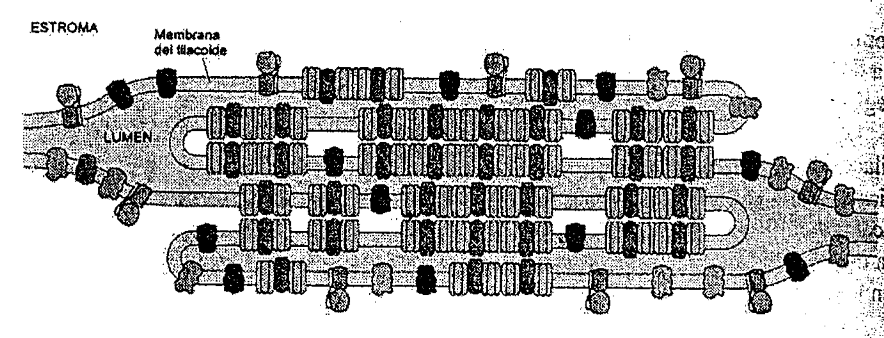




Figura 7.18 Organización de los complejos proteicos de la membrana de los tilacoides. El fotosistema II está localizado predominantemente en las regiones apiladas de la membrana de los tilacoides; el fotosistema I y la ATP sintasa se encuentran en las regiones no apiladas, emergiendo hacia el estroma. Los complejos citocromo b_6f están distribuidos equitativamente. Esta separación lateral de los dos fotosistemas requiere que los electrones y protones producidos por el fotosistema II sean transportados una distancia considerable antes de que puedan actuar sobre el fotosistema I y el enzima de síntesis de ATP. (Según Allen y Forsberg 2001).

El centro de reacción del PSI y sus pigmentos antena asociados y las proteínas de transferencia de electrones, así como el enzima que cataliza la formación de ATP, están casi exclusivamente en las lamelas del estroma y en los extremos de los grana. El complejo citocromo b_6f de la cadena de transporte electrónico que conecta los dos fotosistemas (véase la figura 7.21) está igualmente distribuido entre el estroma y el grana.

Por tanto, los dos eventos fotoquímicos implicados en la fotosíntesis aeróbica están espacialmente separados. Esto implica que entre los fotosistemas funcionan uno o más transportadores de electrones que difunden desde la membrana en la región del grana a la región del estroma, donde los electrones son transferidos al fotosistema I.

En el PSII, la oxidación de dos moléculas de agua produce cuatro electrones, cuatro protones y una molécula de O_2 (véase la ecuación 7.8). Los protones producidos por esta oxidación del agua deben ser capaces de difundir a la región del estroma, donde se sintetiza ATP. No está del todo claro la razón funcional de la gran separación (muchas decenas de nanometros) entre los fotosistemas I y II, aunque se cree que mejora la eficiencia de la distribución energética entre los dos fotosistemas (Trissl y Wilhelm 1993; Allen y Forsberg 2001).

La separación espacial entre los fotosistemas I y II indica que no es estrictamente necesaria una estequiometría 1:1 entre los dos fotosistemas. En realidad, y como veremos más adelante en este capítulo, los centros de reacción del PSII proporcionan los equivalentes reductores a uno de los transportadores solubles de electrones (plastoquinona). Realmente, los centros de reacción del PSI consumen los equivalentes reductores de esa reserva común, y no de algún complejo del centro de reacción del PSII.

La mayoría de las medidas de cantidades relativas de fotosistema I y II han mostrado que existe un exceso del fotosistema II en los cloroplastos. En general, la relación PSII/PSI es de 1,5:1, pero puede cambiar cuando las plantas crecen en diferentes condiciones de luz.

Las bacterias fotosintéticas anoxigénicas tienen un centro de reacción similar al fotosistema II

Los organismos que no producen O_2 (anoxigénicos), como las bacterias purpúreas fotosintéticas del género *Rhodobacter* y *Rhodopseudomonas*, contienen un único fotosistema. Estos organismos más sencillos han sido muy útiles para estudios estructurales y funcionales más detallados, y han contribuido a un mejor conocimiento de los organismos fotosintéticos oxigénicos.

Hartmut Michel, Johann Deisenhofer, Robert Huber y colaboradores en München resolvieron la estructura tridimensional del centro de reacción de la bacteria purpúrea fotosintética *Rhodopseudomonas viridis* (Deisenhofer y Michel 1989). Este logro histórico, por el cual recibieron el Premio Nobel en 1988, fue la primera determinación estructural de alta resolución de una proteína integral de membrana por rayos X, y la primera determinación estructural de un centro de reacción (véanse las figuras 7.5A y 7.5B en **tema web 7.5**). Los análisis detallados de estas estructuras, junto con la caracterización de numerosos mutantes, han revelado muchos de los principios implicados en los procesos de almacenamiento de energía llevados a cabo por todos los centros de reacción.

Se cree que la estructura del centro de reacción bacteriano es similar en muchos aspectos a la que se ha encontrado en el fotosistema II de organismos aerobios, especialmente en la parte de la cadena aceptora de electrones. Las proteínas que forman el cuerpo del centro de reacción bacteriano son similares en su secuencia a las correspondientes del fotosistema II, indicando una cierta relación evolutiva.

LA ORGANIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS ANTENA QUE ABSORBEN LA LUZ

Los complejos antena varían significativamente entre los distintos organismos fotosintéticos, a diferencia de los centros de reacción que son similares incluso entre organismos evolutivamente alejados. La variedad de los complejos antena refleja la adaptación evolutiva a los distintos ambientes en los que viven los organismos, así como la necesidad de un aporte de energía equilibrado a los dos fotosistemas (Grossman y col. 1995; Green y Durnford 1996).

La función de los complejos antena es proporcionar eficientemente energía a los centros de reacción a los que están asociados (van Grondelle y col. 1994; Pullerits y Sundström 1996). El tamaño de los complejos antena varía considerablemente dependiendo de los organismos, desde 20 a 30 bacterioclorofilas por centro de reacción en bacterias fotosintéticas a 200 ó 300 clorofilas por centro de reacción en plantas superiores, y hasta algunos miles de pigmentos por centro de reacción en algunos tipos de algas y bacterias. La estructura molecular de los pigmentos antena también es bastante diversa, aunque todas están asociadas de algún modo a la membrana fotosintética.

Se cree que el mecanismo físico por el cual la energía de excitación es transportada desde la clorofila que absorbe la luz hasta el centro de reacción es la **transferencia por resonancia**. Por este mecanismo, la energía de excitación se transfiere de una molécula a otra por un proceso que no implica radiación.

Una analogía útil para entender la transferencia por resonancia es la transferencia de energía entre dos diapasones. Si se golpea un diapasón y se coloca el otro cerca, el segundo diapasón recibe parte de la energía del primero y comienza a vibrar. Del mismo modo que en la energía transferida por resonancia en los complejos antena, la eficiencia de la transferencia de energía entre los dos diapasones dependerá de la distancia entre cada uno y de la orientación relativa, así como de sus frecuencias de vibración.

La transferencia de energía en los complejos antena es muy eficiente, aproximadamente un 95-99% de los fotones absorbidos por los pigmentos antena llegan a transferir su energía al centro de reacción, donde puede ser utilizada para procesos fotoquímicos. Hay una diferencia importante entre el proceso de transferencia de energía entre pigmentos del complejo antena y la transferencia de electrones que tiene lugar en el centro de reacción: mientras la transferencia de energía es un fenómeno puramente físico, la transferencia electrónica implica cambios químicos en las moléculas.

El complejo antena canaliza la energía al centro de reacción

La secuencia de pigmentos del complejo antena que canaliza la energía absorbida hacia el centro de reacción tiene un máximo de absorción que se desplaza progresivamente hacia el rojo lejano (Figura 7.19). Este desplazamiento hacia el rojo en el máximo de absorción significa que la energía del estado excitado es algo más baja cerca del centro de reacción que en las zonas periféricas del complejo antena.

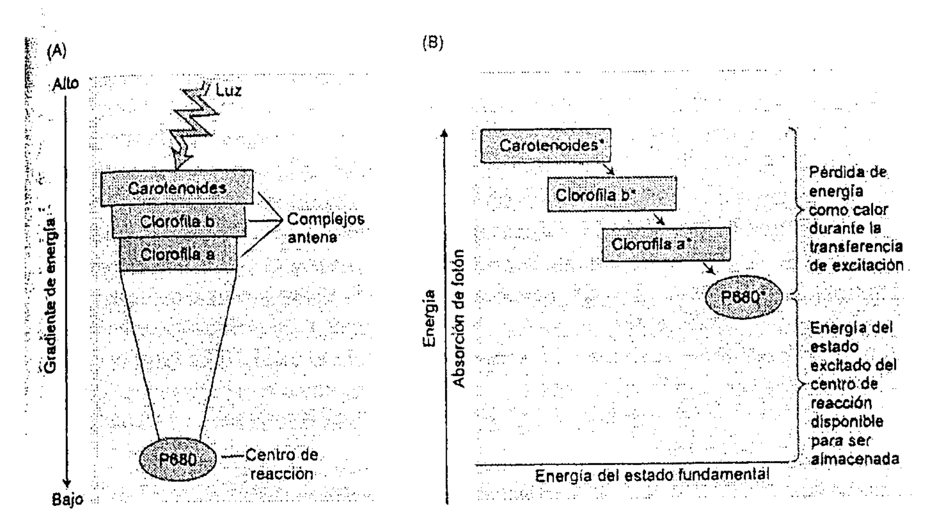


Figura 7.19 Canalización de la excitación desde el complejo antena hacia el centro de reacción. (A) La energía del estado excitado de los pigmentos aumenta con la distancia al centro de reacción; es decir, los pigmentos más próximos al centro de reacción son menos energéticos que los que están más lejos del centro de reacción. Este gradiente de energía asegura que la transferencia de excitación hacia el centro de reacción sea energéticamente favorable y que la transferencia de la excitación de vuelta hacia las partes periféricas de la antena sea energéticamente desfavorable. (B) Por este proceso, parte de la energía se pierde en forma de calor al entorno, pero, en condiciones óptimas, prácticamente todas las excitaciones absorbidas por los complejos antena son transportadas al centro de reacción. Los asteriscos indican el estado excitado.

Como consecuencia de este ordenamiento, cuando la energía de excitación es transferida, por ejemplo, desde una molécula de clorofila *b*, cuyo máximo de absorción es de 650 nm, a una clorofila *a*, cuyo máximo de absorción es de 670 nm, la diferencia de energía entre las dos clorofilas excitadas es cedida al entorno en forma de calor.

Para que la energía de excitación pudiera ser transferida de vuelta a la clorofila *b* sería necesario aportar la energía perdida. La probabilidad, por tanto, de la transferencia inversa es más pequeña, simplemente porque la energía térmica no es suficiente como para superar el déficit entre los pigmentos de menor y mayor energía. Este efecto proporciona al proceso de transferencia de energía un grado de direccionalidad o irreversibilidad, y hace que el transporte de energía al centro de reacción sea más eficiente. Por tanto, el sistema sacrifica parte de la energía de cada cuanto para que prácticamente todos los cuantos sean capturados por el centro de reacción.

Muchos complejos antena tienen un motivo estructural común

En todos los organismos eucariotas fotosintéticos que contienen clorofila *a* y clorofila *b*, las proteínas más abundantes en el complejo antena son los miembros de una gran familia de proteínas relacionadas estructuralmente. Algunas de estas proteínas están asociadas principalmente al fotosistema II y se denominan proteínas del **complejo captador de luz del fotosistema II**, muchas veces llamado LHCII (del inglés, *light-harvesting complex II)*. Estos complejos antena, también son conocidos como **proteínas antena clorofila *a/b*** (Paulsen 19995; Green y Durnford 1996).

Mediante la combinación de microscopía electrónica y cristalografía electrónica se ha determinado la estructura de una de las proteínas del LHCII (Figura 7.20) (Kühlbrandt y col. 1995). La proteína contiene tres regiones α-hélice y une unas 15

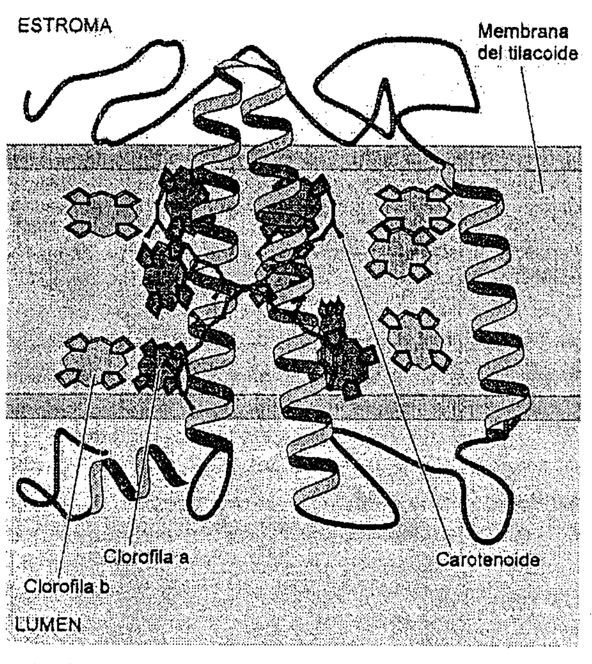


Figura 7.20 Vista en dos dimensiones de la estructura del complejo antena LHCII de plantas superiores, determinada por combinación de microscopía electrónica y cristalografía electrónica. Al igual que la cristalografía de rayos X, la cristalografía electrónica emplea patrones de difracción de electrones de baja energía para resolver estructuras macromoleculares. El complejo antena es una proteína pigmento transmembrana, con tres regiones helicoidales que atraviesan la parte no polar de la membrana. Se asocian aproximadamente 15 moléculas de clorofila *a* y *b* con el complejo, así como bastantes carotenoides. Se muestra la posición de algunas de las clorofilas y dos carotenoides que forman una X en el centro del complejo. En la membrana, el complejo es trimérico y se agrega alrededor de la periferia del complejo del centro de reacción del PSII. (Según Kühlbrandt y col. 1994).

moléculas de clorofila *a* y *b*, así como algunos carotenoides. Sólo algunos de estos pigmentos son visibles en la estructura resuelta. La estructura de las proteínas del LHCI no ha sido determinada todavía, pero probablemente es similar a la de las proteínas del LHCII. Todas estas proteínas tienen una gran similitud de secuencia y probablemente descienden de una proteína precursora común (Grossman y col. 1995; Green y Durnford 1996).

La luz absorbida por carotenoides o clorofilas *b* en las proteínas LHC es rápidamente transferida a la clorofila *a* y de ahí a otros pigmentos antena que están íntimamente asociados al centro de reacción. El complejo LHCII está también implicado en procesos reguladores que se analizarán más adelante en este capítulo.

MECANISMOS DE TRANSPORTE DE ELECTRONES

En este capítulo ya hemos analizado algunas de las evidencias que condujeron a la idea de la existencia de dos reacciones fotoquímicas operando en serie. Vamos a estudiar en detalle las reacciones químicas implicadas en la transferencia de electrones durante la fotosíntesis. Analizaremos la excitación de la clorofila por la luz, la reducción del primer aceptor de electrones, el flujo de electrones a través de los fotosistemas II y I, la oxidación del agua como fuente primaria de electrones y la reducción del último aceptor de electrones ($NADP^+$). El mecanismo quimiosmótico que media la síntesis de ATP se analizará detalladamente más adelante en este capítulo (véase el «Transporte de protones y síntesis de ATP en el cloroplasto»).

Los electrones cedidos por la clorofila viajan a través de una serie de transportadores electrónicos organizados en el «esquema en Z»

La figura 7.21 muestra la versión actual del esquema en Z, en el que todos los transportadores de electrones conocidos en el flujo de electrones desde el agua al $NADP^+$ están ordenados verticalmente con sus potenciales redox medios (para más detalles, consúltese el **tema web 7.6**). Los componentes que se sabe que reaccionan entre sí están conectados por flechas, por eso, el esquema en Z realmente sintetiza tanto la información cinética como la termodinámica. Las grandes flechas verticales representan el aporte de energía luminosa al sistema.

Los fotones excitan una clorofila especializada de los centros de reacción (P680 en el PSII y P700 en el PSI) de forma que se cede un electrón. El electrón se mueve entonces a través de una serie de transportadores electrónicos que finalmente reducen al P700 (los electrones del PSII) o al $NADP^+$ (los electrones del PSI). Una gran

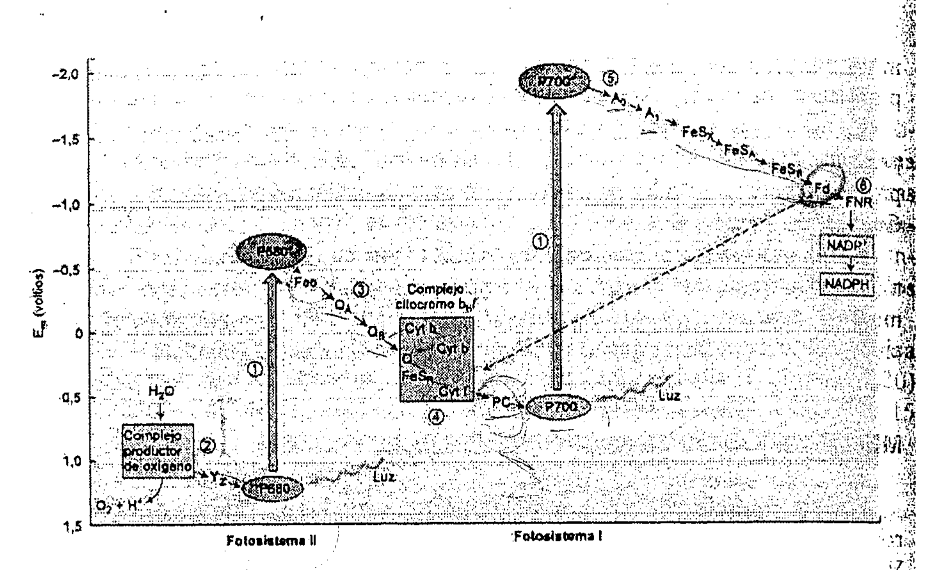


Figura 7.21 Esquema en Z detallado para los organismos fotosintéticos productores de oxígeno. Los transportadores redox están distribuidos según sus potenciales redox medios (a pH 7). (1) Las flechas verticales representan la absorción de fotones por la clorofila del centro de reacción: P680 en el fotosistema II (PSII) y P700 en el fotosistema I (PSI). La clorofila excitada del centro de reacción del PSII, P680*, transfiere un electrón a la feofitina (Feo). (2) En el lado oxidante del PSII (a la izquierda de la flecha que une P680 y P680*), el P680 oxidado por la luz es vuelto a reducir por Y_Z, que recibe los electrones de la oxidación del agua. (3) En el lado reductor del PSII (a la derecha de la flecha que une P680 y P680*), la feofitina transfiere los electrones a los aceptores Q_A y Q_B, que son plastoquinonas. (4) El complejo citocromo b_6f transfiere los electrones a la plastocianina (PC), una proteína soluble, que a su vez reduce P700+ (P700 oxidado). (5) Se cree que el aceptor de los electrones de P700* (A_0) es una clorofila, y que el siguiente aceptor (A_1) es una quinona. Una serie de proteínas ferrosulfuradas unidas a la membrana (FeS_X, FeS_A y FeS_B) transfieren los electrones a la ferredoxina soluble (Fd). (6) La flavoproteína soluble ferredoxina-NADP reductasa (FNR) reduce el NADP+ a NADPH, que será utilizado en el ciclo de Calvin para reducir el CO_2 (véase el Capítulo 8). Las líneas discontinuas indican un flujo de electrones cíclico asociado al PSI. (Según Blankenship y Prince 1985).

parte del desarrollo que sigue a continuación describe el transporte de estos electrones y la naturaleza de sus transportadores.

Casi todos los procesos químicos que producen las reacciones luminosas de la fotosíntesis son llevados a cabo principalmente por cuatro complejos proteicos: el fotosistema II, el complejo citocromo b_6f, el fotosistema I y la ATP sintasa. Estos cuatro complejos integrales de membrana están orientados vectorialmente en la membrana de los tilacoides y funcionan como se describe a continuación (véase la figura 7.22):

- El fotosistema II oxida el agua a O_2 en el lumen de los tilacoides, liberando protones al lumen en el proceso.

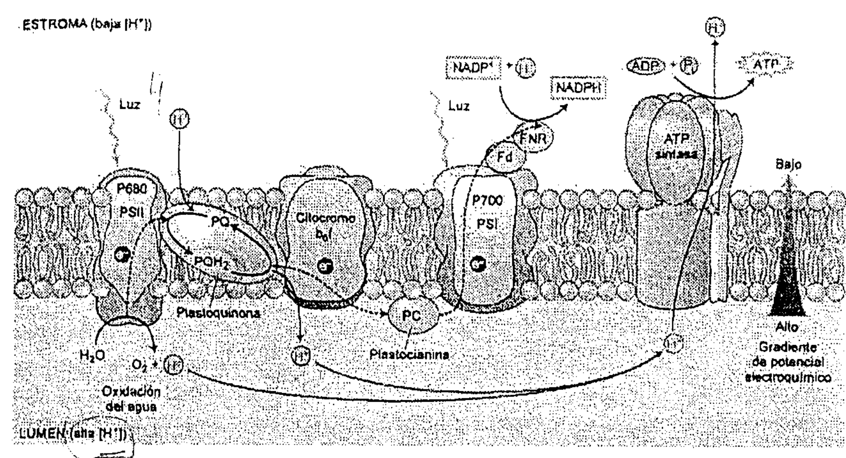


Figura 7.22 La transferencia de protones y electrones en la membrana de los tilacoides es llevada a cabo vectorialmente por cuatro complejos de proteínas. La oxidación del agua y la liberación de protones en el lumen son realizadas por el PSII. El PSI reduce NADP+ a NADPH en el estroma, por acción de la ferredoxina (Fd) y la flavoproteína ferredoxina–NADP reductasa (FNR). Los protones son transportados también al lumen por acción del complejo citocromo b_6f y contribuyen al gradiente electroquímico de protones. Estos protones deben difundir a favor de gradiente de potencial electroquímico a través del enzima ATP sintasa, empleándose esta energía para sintetizar ATP en el estroma. La plastoquinona reducida (PQH_2) y la plastocianina transfieren electrones al citocromo b_6f y al PSI, respectivamente. Las líneas discontinuas representan la transferencia de electrones; las líneas continuas representan el movimiento de protones.

- El citocromo b_6f recibe electrones del PSII y los cede al PSI. Además transporta protones adicionales al lumen desde el estroma.
- El fotosistema I reduce el $NADP^+$ a NADPH en el estroma por la acción de una ferredoxina (Fd) y una flavoproteína ferredoxina–NADP reductasa (FNR).
- La ATP sintasa produce ATP a medida que los protones difunden, a través de ella, desde el lumen de vuelta al estroma.

La energía es capturada cuando una clorofila excitada reduce una molécula aceptora de electrones

Como analizamos anteriormente, la función de la luz es excitar una clorofila especializada del centro de reacción, bien por absorción directa, o más frecuentemente, por transferencia de energía desde un pigmento del complejo antena. Este proceso de excitación puede ser considerado como la promoción de un electrón desde el orbital lleno de mayor energía de la clorofila al orbital vacío de menor energía (Figura 7.23). El electrón del orbital superior está débilmente unido a la

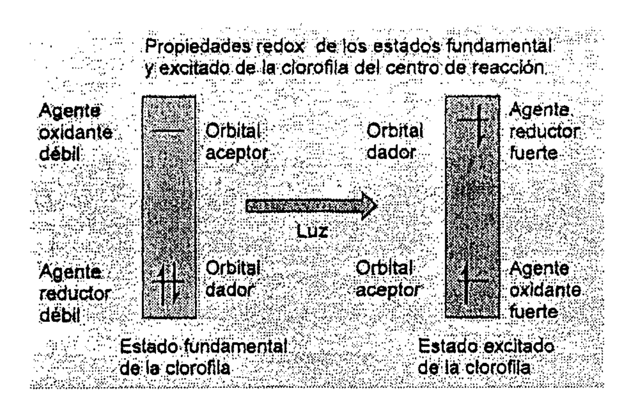


Figura 7.23 Diagrama de ocupación orbital para los estados fundamental y excitado de la clorofila del centro de reacción. En el estado fundamental la molécula es un agente reductor débil (pierde electrones de un orbital de baja energía) y un agente oxidante débil (acepta electrones sólo en un orbital de alta energía). En el estado excitado la situación se invierte, y se puede perder un electrón de un orbital de alta energía, convirtiendo a la molécula en un poderoso agente reductor. Esta es la razón del potencial redox extremadamente negativo del estado excitado que muestran P680* y P700* en la figura 7.21. El estado excitado también puede actuar como un oxidante fuerte aceptando electrones en un orbital de menor energía, aunque esta ruta no es significativa en los centros de reacción. (Según Blankenship y Prince 1985).

clorofila y se puede perder fácilmente si está cerca una molécula que pueda aceptar el electrón.

La primera reacción que convierte la energía del electrón en energía química, es decir, el principal acontecimiento fotoquímico, es la cesión de un electrón desde el estado excitado de una clorofila en el centro de reacción a una molécula aceptora. Una forma equivalente de ver este proceso es que el fotón absorbido provoca un reordenamiento electrónico en la clorofila del centro de reacción, seguida de un proceso de transferencia de electrones en el que parte de la energía del fotón es capturada en forma de energía redox.

Inmediatamente después del proceso fotoquímico, la clorofila del centro de reacción está en un estado oxidado (con déficit de electrones o cargada positivamente) y una molécula aceptora de electrones cercana está reducida (con exceso de electrones o cargada negativamente). El sistema se encuentra entonces en un punto crítico. El orbital de menor energía de la clorofila oxidada y cargada positivamente del centro de reacción que se muestra en la figura 7.23, tiene un hueco y puede aceptar un electrón. Si la molécula aceptora cediese de nuevo su electrón a la clorofila del centro de reacción, el sistema volvería al mismo estado que existía antes de ser excitado por la luz y toda la energía absorbida sería convertida en calor.

Sin embargo, este proceso reversible no parece producirse en los centros de reacción activos. El aceptor transfiere este electrón extra a un segundo aceptor, y así sucesivamente a lo largo de la cadena de transporte electrónico. El centro de reacción oxidado de la clorofila que había cedido un electrón es reducido por un dador secundario, que es reducido a su vez, de nuevo, por un dador terciario. En plantas, el último dador de electrones es el agua y el último aceptor de electrones es el $NADP^+$ (véase la figura 7.21).

La esencia del almacenamiento fotosintético de la energía es por lo tanto la transferencia inicial de un electrón desde una clorofila excitada a una molécula aceptora, seguida de una serie de reacciones químicas secundarias muy rápidas que separan las cargas positivas y negativas. Estas reacciones secundarias separan las cargas en lados opuestos de la membrana de los tilacoides en aproximadamente 200 picosegundos (1 picosegundo = 10^{-12} s).

Con esta separación de carga, la reacción inversa es varios órdenes de magnitud más lenta, por lo que la energía ha sido capturada de forma efectiva. La transferencia de cada uno de los electrones secundarios viene acompañada de cierta pérdida de energía, haciendo el proceso efectivamente irreversible. El rendimiento cuántico para la generación de productos estables en centros de reacción purificados de bacterias fotosintéticas es de 1,0, es decir, cada fotón produce un producto estable y la reacción inversa no se produce.

Aunque este tipo de medidas no se han realizado en centros de reacción purificados de plantas superiores, las medidas del requerimiento cuántico para producir O_2 en condiciones óptimas (baja intensidad de luz) indican que los valores para los primeros procesos fotoquímicos son muy cercanos a 1,0. La estructura del centro de reacción parece estar extremadamente ajustada para velocidades máximas en reacciones productivas y para velocidades mínimas de reacciones de pérdida de energía.

Las clorofilas del centro de reacción de los dos fotosistemas absorben a diferentes longitudes de onda

Como comentamos anteriormente en este capítulo, PSI y PSII tienen características de absorción diferentes. Las medidas precisas de los máximos de absorción fueron posibles gracias a los cambios ópticos de las clorofilas del centro de reacción en sus estados reducido y oxidado. La clorofila del centro de reacción está transitoriamente en un estado oxidado después de perder un electrón y antes de ser reducido de nuevo por el dador de electrones.

En el estado oxidado, la fuerte absorbancia de luz en la región del rojo del espectro, característica de las clorofilas, se pierde o **se blanquea**. Es posible, por tanto, realizar un seguimiento del estado redox de estas clorofilas midiendo la absorbancia en función del tiempo, siguiendo el proceso de blanqueo en tiempo real (véase el **tema web 7.1**).

Utilizando estas técnicas, Bessel Kok encontró que la clorofila del centro de reacción del fotosistema I tiene un máximo de absorción a 700 nm en su estado reducido. De ahí que a esta clorofila se la denomine **P700** (la P procede de la palabra pigmentos). H. T. Witt y sus colaboradores encontraron la transición análoga del fotosistema II a 680 nm y por ello la clorofila de este centro de reacción se denomina **P680**. Con anterioridad, Louis Duysens había identificado la bacterioclorofila del centro de reacción de la bacteria fotosintética purpúrea como **P870**.

La estructura de rayos X del centro de reacción bacteriano (véanse las figuras 7.5A y 7.5B en el **tema web 7.5**) indica claramente que P870 es un par acoplado o un dímero de bacterioclorofilas, y no una única molécula. El dador primario del fotosistema I, P700, es un dímero de moléculas de clorofila *a*. El fotosistema II también contiene un dímero de clorofilas, aunque el dador primario, P680, puede que no se encuentre en su totalidad en estos pigmentos. En el estado oxidado, las clorofilas del centro de reacción tienen un electrón desapareado. Las moléculas con electrones desapareados a menudo pueden ser detectadas por una técnica de resonancia magnética conocida como **resonancia de espín electrónico (ESR)**. Los estudios ESR, junto con las medidas espectroscópicas antes descritas, han llevado al descubrimiento de varios transportadores de electrones intermedios en el sistema de transporte electrónico fotosintético.

El centro de reacción del fotosistema II es un complejo pigmento-proteína con muchas subunidades

El fotosistema II se encuentra formando parte de un supercomplejo proteico de muchas subunidades (Figura 7.24) (Barber y col. 1999). En las plantas superiores, este supercomplejo proteico tiene dos centros de reacción completos y algunos complejos antena. El núcleo del complejo del centro de reacción está formado por dos proteínas de membrana conocidas como D1 y D2, así como otras proteínas, tal y como se muestra en la figura 7.25 (Zouni y col. 2001).

La primera clorofila dadora (P680), clorofilas adicionales, carotenoides, feofitinas y plastoquinonas (los dos aceptores electrónicos que se describen en la siguiente sección) se encuentran unidas a las proteínas de membrana D1 y D2. Estas proteínas tienen cierta similitud de secuencia con los péptidos L y M de la bacteria purpúrea. Hay otras proteínas que actúan como complejos antena o que están implicadas en la producción de oxígeno. Algunas, como el citocromo b_{559}, no tienen una función conocida, pero parecen estar implicadas en un ciclo protector cerca del fotosistema II.

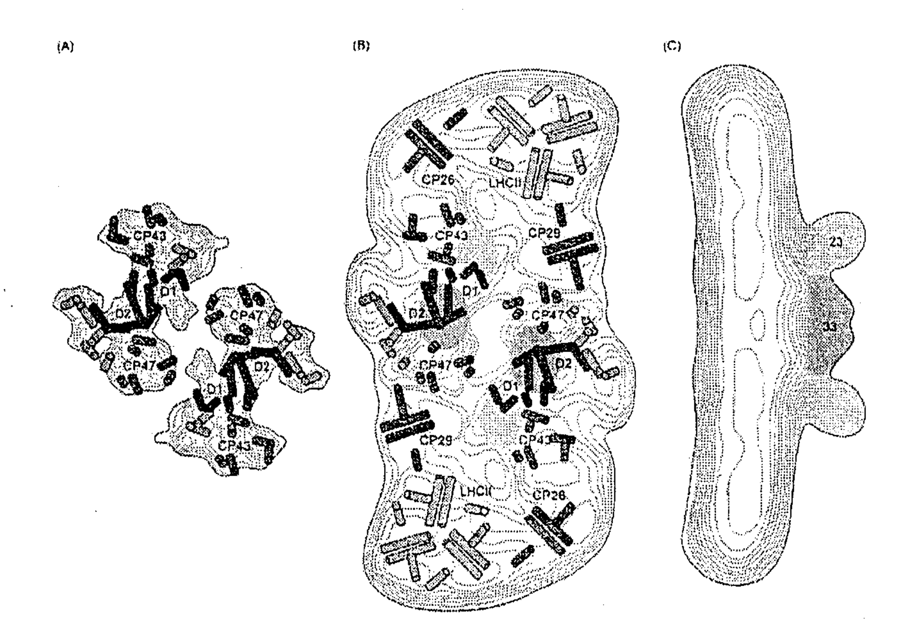


Figura 7.24 Estructura del supercomplejo proteico dimérico de multisubunidades del fotosistema II en plantas superiores, tal y como se determinó por microscopía electrónica. La figura muestra dos centros de reacción completos, cada uno de los cuales es un complejo dimérico. (A) Ordenamiento helicoidal de las subunidades del núcleo D1 y D2 (rojo) y CP43 y CP47 (verde). (B) Vista desde el lado del lumen del supercomplejo, incluyendo complejos antena adicionales, LHCII, CP26 y CP29, y el complejo productor de oxígeno extrínseco, mostrados con círculos naranjas y amarillos. Las hélices que no están asignadas se representan en gris. (C) Vista lateral del complejo, mostrando el ordenamiento de las proteínas extrínsecas del complejo productor de oxígeno. (Según Barber y col. 1999). (Véase la estructura en color en el CD).

El fotosistema II oxida el agua a oxígeno

El agua es oxidada según la siguiente reacción química (Hoganson y Babcock 1997):

$$2\,H_2O \rightarrow O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^- \qquad (7.8)$$

Esta ecuación indica que para generar una molécula de oxígeno y cuatro protones son liberados cuatro electrones de dos moléculas de agua. (Para más información sobre las reacciones de oxidación reducción, véase el capítulo 2 en la página web y en el **tema web 7.6**).

El agua es una molécula muy estable. La oxidación del agua a la forma molecular del oxígeno es muy difícil, y el complejo productor de oxígeno fotosintético es

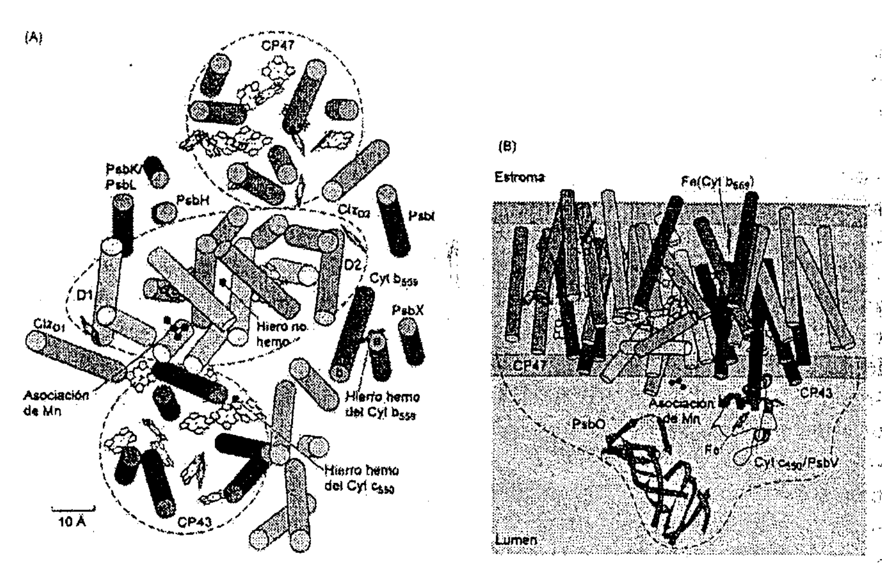


Figura 7.25 Estructura del centro de reacción del fotosistema II de la cianobacteria *Synechococcus elongatus*, resuelta a 3,8 Å. La estructura incluye las proteínas D1 y D2 del núcleo del centro de reacción, las proteínas antena CP43 y CP47, los citocromos b_{559} y b_{550}, la proteína extrínseca de 33 KDa PsbO, productora de oxígeno, y los pigmentos y otros cofactores. Las siete hélices no asignadas se muestran en gris. (A) Vista desde la superficie del lumen, perpendicular al plano de la membrana. (B) Vista lateral paralela al plano de la membrana (Según Zouni y col. 2001). (Véase la estructura en color en el CD).

el único sistema bioquímico conocido capaz de completar esta reacción. La producción fotosintética de oxígeno es, además, la fuente de casi todo el oxígeno atmosférico de la Tierra.

Todavía se desconoce el mecanismo químico de la oxidación fotosintética del agua, aunque varios estudios de este proceso han aportado una información sustancial (véase el **tema web 7.7** y la figura 7.26). Los protones producidos por la oxidación del agua se liberan en el lumen de los tilacoides, no directamente en el estroma (véase la figura 7.22). Son liberados en el lumen por la naturaleza vectorial de la membrana y por el hecho que el complejo productor de oxígeno se encuentra en el interior de la superficie de los tilacoides. Estos protones son liberados finalmente desde el lumen al estroma por transporte a través de la ATP sintasa. De este modo, los protones liberados durante la oxidación del agua contribuyen al potencial electroquímico que dirige la formación de ATP.

Desde hace años se sabe que el manganeso (Mn) es un cofactor esencial para el proceso de oxidación del agua (véase el capítulo 5), y una hipótesis clásica en la investigación de la fotosíntesis postula que los iones Mn sufren una serie de oxidaciones que se conocen como los *estados S*, y definidos como S_0, S_1, S_2, S_3 y S_4 (véase

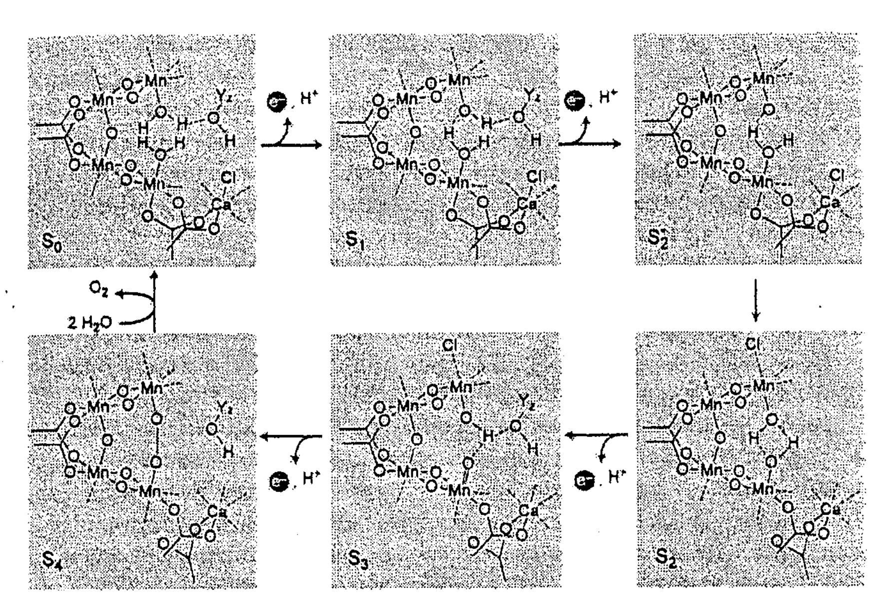


Figura 7.26 Modelo del ciclo del estado S para la producción de oxígeno en el PSII. Se muestran los sucesivos estados en la oxidación del agua a través del complejo productor de oxígeno que contiene Mn. Y_Z es un radical tirosina, transportador electrónico intermedio entre P680 y el cluster de Mn. (Según Tommos y Babcock 1998).

el **tema web 7.7**), que pueden estar relacionados con la oxidación del agua y la producción de O_2 (véase la figura 7.26). Esta hipótesis se sustenta en varios experimentos, los más destacados son los estudios de absorción de rayos X y ESR, que detectan el manganeso directamente (Yachandra y col. 1996). Los experimentos analíticos indican que hay cuatro átomos de Mn asociados a cada centro productor de oxígeno. Otros experimentos han mostrado que los iones Cl^- y Ca^{2+} son esenciales para la producción de O_2 (véase la figura 7.26 y el **tema web 7.7**).

Un transportador de electrones, generalmente identificado como Y_Z, actúa entre el complejo productor de oxígeno y P680 (véanse las figuras 7.21 y 7.26). Para funcionar en este punto, Y_Z necesita tener una fuerte tendencia a retener sus electrones. Esta especie ha sido identificada como un radical formado a partir de un residuo de tirosina en la proteína D1 del centro de reacción del PSII.

La feofitina y dos quinonas aceptan electrones del fotosistema II

A partir de datos espectrales y de ESR se postula que la feofitina es un aceptor temprano de electrones en el fotosistema II, seguido de un complejo de dos plasto-

(A)

Plastoquinona

(B)

Quinona (Q) + e^- → Plastosemiquinona (Q^-) + 1 e^- + 2 H^+ → Plastohidroquinona (QH_2)

Figura 7.27 Estructura y reacciones de la plastoquinona que actúa en el fotosistema II. (A) La plastoquinona está formada por una cabeza tipo quinasa y una larga cola no polar que la ancla a la membrana. (B) Reacciones redox de la plastoquinona. Se muestran las formas de la quinona completamente oxidada (Q), la semiquinona aniónica ($Q^{\cdot}$) y la hidroquinona reducida (QH_2); la R representa la cadena lateral.

quinonas próximas a un átomo de hierro. La **feofitina** es una clorofila en la que el átomo central de magnesio ha sido sustituido por dos átomos de hidrógeno. Este cambio proporciona a la feofitina unas propiedades químicas y espectrales ligeramente diferentes de las de la clorofila. No se conoce completamente el ordenamiento preciso de los transportadores en el complejo aceptor de electrones, pero probablemente debe ser similar al del centro de reacción de la bacteria purpúrea (para más detalles, véase la figura 7.5B en el **tema web 7.5**).

Las dos plastoquinonas (Q_A y Q_B) están unidas al centro de reacción y reciben los electrones de la feofitina de forma secuencial (Okamura y col. 2000). La transferencia de dos electrones reducen Q_B a Q_B^{2-}, y la Q_B^{2-} reducida capta dos protones del estroma, formando una **plastohidroquinona** completamente reducida (QH_2) (Figura 7.27). Entonces la plastohidroquinona se disocia del complejo del centro de reacción y se introduce en la región hidrocarbonada de la membrana, donde transfiere sus electrones al complejo citocromo b^6f. A diferencia de los grandes complejos proteicos de la membrana de los tilacoides, la hidroquinona es una molécula pequeña, no polar, que difunde fácilmente a través del centro no polar de la bicapa lipídica.

El flujo de electrones a través del complejo citocromo b_6f también transporta protones

El **complejo citocromo b_6f** es una proteína de gran tamaño formada por múltiples subunidades con numerosos grupos prostéticos (Cramer y col. 1996; Berry y col. 2000). Contiene dos grupos hemo tipo *b* y un hemo tipo *c* (**citocromo *f***). En los citocromos tipo *c*, el grupo hemo está unido covalentemente al péptido, mientras que en los citocromos tipo *b* el grupo protohemo equivalente no está unido covalentemente (Figura 7.28). Además, el complejo contiene una **proteína ferrosulfurada de Rieske** (llamada así en honor a su descubridor) en la que dos átomos de hierro están unidos por dos átomos de azufre.

Se han determinado las estructuras del citocromo *f* y el complejo similar al citocromo bc_1, y se ha sugerido un mecanismo para el flujo de protones y electrones. La ruta precisa para el flujo de electrones y protones a través del complejo citocromo b^6f no se conoce completamente, aunque el mecanismo conocido como **ciclo Q**, explica la mayoría de las observaciones. En este mecanismo la plastohidroquinona (QH_2) es oxidada, y uno de los dos electrones pasa a través de una cadena de transporte lineal hacia el fotosistema I, mientras el otro electrón sigue una ruta cíclica que aumenta el número de protones bombeados a través de la membrana (Figura 7.29).

En la cadena de transporte electrónico lineal, la proteína de Rieske oxidada (**FeS_R**) acepta un electrón de la plastohidroquinona (QH_2) y lo transfiere al citocromo *f* (véase la figura 7.29A). Entonces, el citocromo *f* transfiere el electrón a la plastocianina (PC), una proteína de color azul que contiene cobre, que a su vez reduce al P700 oxidado del PSI. En la parte cíclica del proceso (véase la figura 7.29B), la plastose-

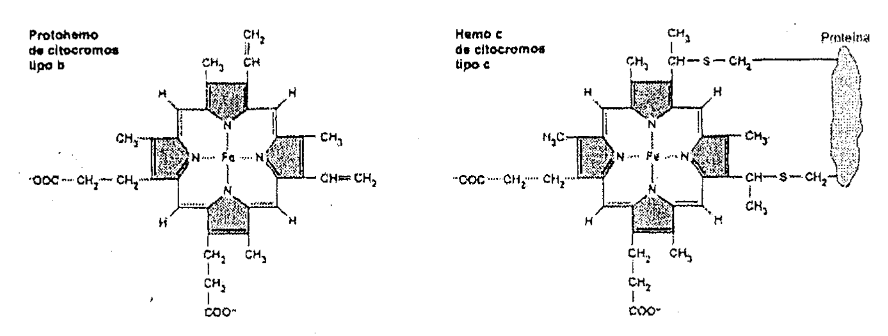
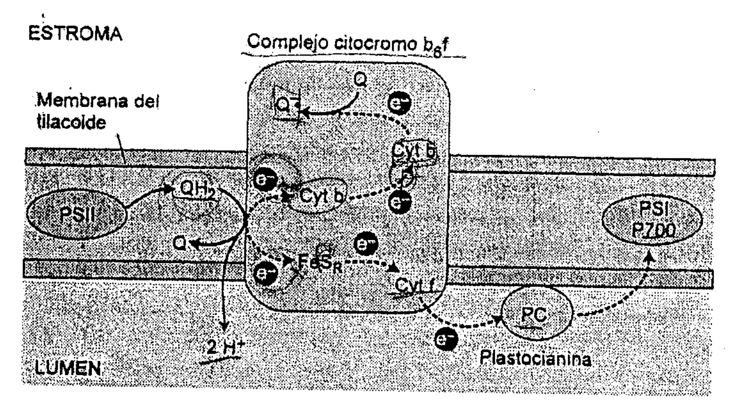


Figura 7.28 Estructura de los grupos prostéticos de los citocromos tipo *b* y *c*. El grupo protohemo (también llamado protoporfirina IX) se encuentra en los citocromos tipo *b* y el grupo hemo *c* en los citocromos tipo *c*. El grupo hemo c está covalentemente unido a la proteína mediante enlaces tioéter con dos residuos de cisteína de la proteína; el grupo protohemo no está covalentemente unido a la proteína. El ión hierro está en el estado de oxidación 2+ en los citocromos reducidos, y en el estado de oxidación 3+ en los citocromos oxidados.



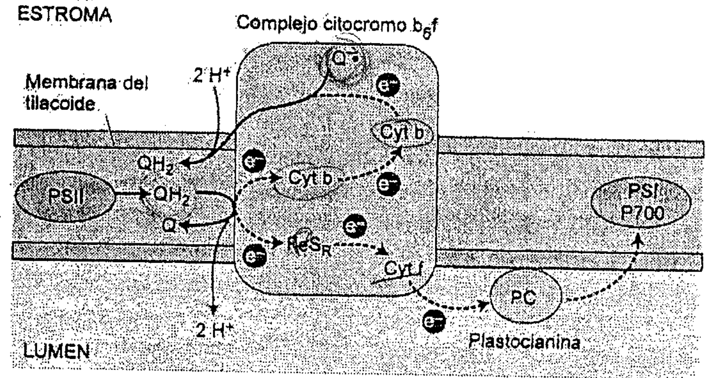


Figura 7.29 Mecanismo de transferencia de electrones y protones en el complejo b_6f. Este complejo contiene dos citocromos tipo b (Cyt *b*), un citocromo tipo c (Cyt *c*, históricamente llamado citocromo f), una proteína ferrosulfurada de Rieske (FeS_R) y dos sitios de oxidación-reducción de quinonas. (A) Proceso no cíclico o lineal: Una molécula de plastohidroquinona (QH_2) producida por acción del PSII (véase la figura 7.27) es oxidada cerca en el complejo del lumen, transfiriendo uno de sus dos electrones a la proteína Fe-S de Rieske y el otro a uno de los citocromos tipo *b*, y expulsando simultáneamente dos protones al lumen. El electrón transferido a la FeS_R pasa al citocromo f (Cyt f) y de ahí a la plastocianina (PC), que reduce el P700 del PSI. El citocromo tipo *b* reducido transfiere un electrón al otro citocromo tipo *b*, que reduce una quinona (Q) al estado de semiquinona ($Q^{\bullet}$) (véase la figura 7.27). (B) Proceso cíclico: Una segunda QH_2 es oxidada, cediendo un electrón, a la FeS_R, y de ahí a la PC y, finalmente, al P700. El segundo electrón, a través de los dos citocromos tipo *b*, reduce la semiquinona a plastohidroquinona, captando al mismo tiempo dos prptones del estroma. En conjunto, se transfieren cuatro protones a través de la membrana por cada dos electrones enviados a P700.

miquinona (véase la figura 7.27) transfiere el otro electrón a uno de los hemos tipo *b*, liberando sus dos protones al lumen de la membrana.

El hemo tipo *b* transfiere su electrón a través del segundo hemo tipo *b* a una molécula de quinona oxidada, reduciéndola a la forma semiquinona cerca de la superficie del estroma del complejo. Otra secuencia similar de flujo electrónico reduce completamente la plastoquinona, que capta protones de la parte del estroma de la membrana y es liberada del complejo b_6f como plastohidroquinona.

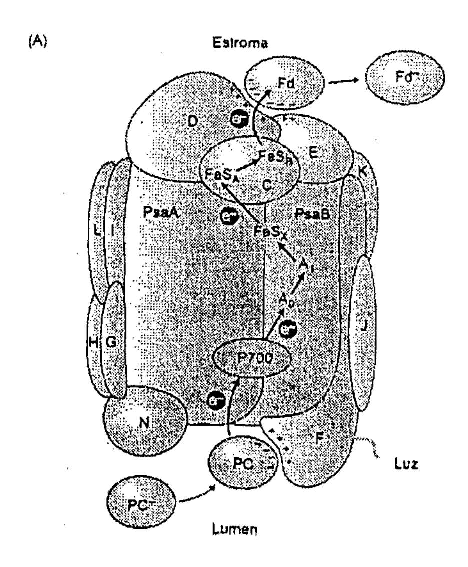
El resultado neto, tras dos secuencias del complejo, es que dos electrones son transferidos al P700, dos plastohidroquinonas son oxidadas a la forma quinona y una plastoquinona oxidada es reducida a la forma hidroquinona. Además, se transfieren cuatro protones desde el lado del estroma de la membrana al del lumen.

Por este mecanismo, el flujo de electrones que conecta el lado aceptor del centro de reacción del PSII con el lado dador del centro de reacción del PSI permite elevar el potencial electroquímico a través de la membrana, debido en parte a las diferencias en la concentración de protones a ambos lados de la membrana. Este potencial electroquímico es empleado para dirigir la síntesis de ATP. El flujo cíclico de electrones a través del citocromo *b* y la plastoquinona aumenta el número de protones bombeados por electrón respecto a los que se obtendrían en una secuencia estrictamente lineal.

La plastoquinona y la plastocianina transportan electrones entre los fotosistemas II y I

La localización de los dos fotosistemas en sitios distintos de la membrana de los tilacoides (véase la figura 7.18) hace necesario que al menos un componente sea capaz de moverse a lo largo o dentro de la membrana para enviar los electrones producidos por el fotosistema II hasta el fotosistema I. El complejo citocromo b_6f está distribuido homogéneamente entre las regiones de la membrana de los grana y del estroma, aunque su gran tamaño hace poco probable que sea el transportador móvil. Por el contrario, la plastoquinona o la plastocianina, o probablemente ambas, pueden actuar como transportadores móviles conectando los dos fotosistemas.

La **plastocianina** es una proteína pequeña (10,5 kDa), hidrosoluble, que contiene cobre y transfiere electrones entre el complejo citocromo b_6f y el P700. Esta proteína se encuentra en el espacio del lumen (véase la figura 7.29). En algunas algas verdes y cianobacterias se encuentra un citocromo tipo *c* en lugar de la plastocianina; se sintetiza una proteína u otra dependiendo de la cantidad de cobre disponible para el organismo.



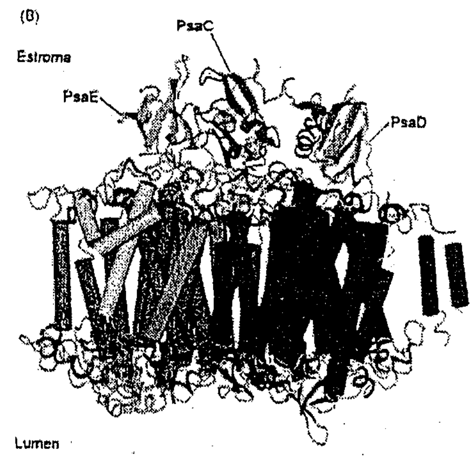


Figura 7.30 Estructura del fotosistema I. (A) Modelo estructural del centro de reacción del PSI. Los componentes del centro de reacción del PSI se organizan rodeándo dos proteínas de gran tamaño, PsaA y PsaB. Las proteínas menores PsaC a PsaN se han nombrado como C a N. Los electrones se transfieren desde la plastocianina (PC) al P700 (véanse las figuras 7.21 y 7.22) y de ahí a una molécula de clorofila, A_0, a la filoquinona, A_1, a los centros FeS_X, FeS_A, y FeS_B y, finalmente, a la proteína soluble ferrosulfurada, ferredoxina (Fd). (B) Vista lateral de un monómero de PSI de la cianobacteria *Synechococcus elongatus*, a una resolución de 2,5 Å. En la parte superior de la figura está el lado del estroma de la membrana y en la parte inferior el lado del lumen. Las hélices α transmembrana de PsaA y PsaB se muestran como cilindros de color azul y rojo, respectivamente. (A según Buchanan y col. 2000; B según Jordan y col. 2001). (Véase la estructura en color en el CD).

El centro de reacción del fotosistema I reduce $NADP^+$

El complejo del centro de reacción del fotosistema I es de gran tamaño y está formado por múltiples subunidades (Figura 7.30) (Jordan y col. 2001). A diferencia del PSII, el centro de reacción del PSI (P700) contiene un centro antena de unas 100 clorofilas. El núcleo del complejo antena y el P700 están unidos a dos proteínas, PsaA y PsaB, de masas moleculares del orden de 66 a 70 kDa (Brettel 1997; Chitnis 2001; véase también el **tema web 7.8**).

Los pigmentos antena forman una superficie redondeada rodeando los cofactores de transferencia de electrones, que están en el centro del complejo. En su forma reducida, los transportadores de electrones que trabajan en la región aceptora del fotosistema I son agentes extremadamente reductores. Estas moléculas reducidas son muy inestables, y por ello difíciles de identificar. Hay evidencias que indican que uno de estos aceptores tempranos de electrones es una molécula de clorofila y la otra es una quinona, la filoquinona, también conocida como vitamina K_1.

Entre los aceptores de electrones adicionales se incluyen una serie de tres proteínas ferrosulfuradas asociadas a la membrana, o ferredoxinas unidas, conocidas como **centros ferrosulfurados FeS_X, FeS_A y FeS_B** (véase la figura 7.30). El centro Fe-S tipo X forma parte de la proteína de unión a P700, mientras que los centros A y B se encuentran en una proteína de 8 kDa que forma parte del complejo del centro de reacción del PSI. Los electrones son transferidos a través de los centros A y B a la **ferredoxina (Fd)**, una pequeña proteína ferrosulfurada hidrosoluble (véanse las figuras 7.21 y 7.30). La flavoproteína asociada a la membrana **ferredoxina-NADP reductasa (FNR)** reduce el $NADP^+$ a NADPH, completándose así la secuencia de transporte de electrones no cíclico iniciada con la oxidación del agua (Karplus y col. 1991).

Además de la reducción del $NADP^+$, la ferredoxina reducida producida por el fotosistema I realiza otras funciones en el cloroplasto, como por ejemplo proporcionar reductores que reduzcan el nitrato o regular algunos enzimas de fijación de carbono (véase el capítulo 8).

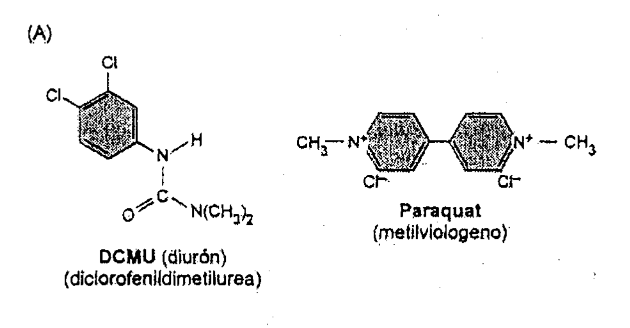
El flujo cíclico de electrones genera ATP, pero no NADPH

Algunos de los complejos citocromo b_6f se encuentran en la región del estroma de la membrana, donde está localizado el fotosistema I. Se sabe que, en ciertas condiciones, puede producirse un **flujo cíclico de electrones** desde la parte reductora del fotosistema I a través del complejo citocromo b_6f y de vuelta al P700. Este flujo cíclico de electrones está acoplado al bombeo de protones al lumen, que puede ser utilizado para sintetizar ATP, pero que no puede oxidar el agua o reducir el $NADP^+$. El flujo cíclico de electrones es especialmente importante como fuente de ATP en los

cloroplastos de la vaina del haz de algunas plantas que llevan a cabo la fijación de carbono C_4 (véase el capítulo 8).

Algunos herbicidas bloquean el flujo de electrones

En la agricultura moderna está ampliamente extendido el uso de herbicidas para acabar con las plantas no deseadas. Se han desarrollado muchas clases de herbicidas que actúan bloqueando la biosíntesis de aminoácidos, carotenoides o lípidos o interrumpiendo la división celular. Otros herbicidas, como el DCMU (diclorofenildimetilurea) y el paraquat, bloquean el flujo fotosintético de electrones (Figura 7.31). El DCMU también se conoce como diurón. El paraquat se ha hecho más conocido debido a su uso en los cultivos de marihuana.



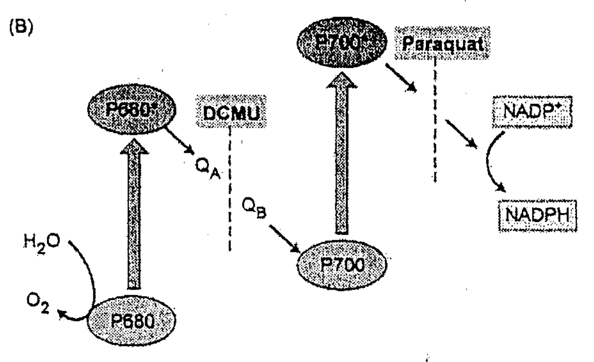


Figura 7.31 Estructura química y mecanismo de acción de dos herbicidas importantes. (A) Estructura química del diclorofenildimetilurea (DCMU) y metilviologeno (paraquat), dos herbicidas que bloquean el flujo fotosintético de electrones. El DCMU también es conocido como diurón. (B) Sitios de acción de los dos herbicidas. El DCMU bloquea el flujo de electrones en los aceptores de quinonas del fotosistema II, compitiendo por el sitio de unión de la plastoquinona. El paraquat actúa aceptando electrones de los aceptores iniciales del fotosistema I.

Muchos herbicidas, entre ellos el DCMU, actúan interrumpiendo el flujo de electrones a nivel de las quinonas aceptoras del fotosistema II, compitiendo por el sitio de unión de la plastoquinona que normalmente está ocupado por la Q_B. Otros herbicidas como el paraquat, actúan capturando los electrones de los aceptores primarios del fotosistema I y reaccionan con el oxígeno, generando superóxido, O_2^-, una especie muy dañina para los componentes del cloroplasto, especialmente para los lípidos.

TRANSPORTE DE PROTONES Y SÍNTESIS DE ATP EN EL CLOROPLASTO

En las secciones anteriores, hemos estudiado cómo la energía luminosa capturada es utilizada para reducir el $NADP^+$ a NADPH. Otra fracción de la energía luminosa capturada es empleada para la síntesis de ATP dependiente de la luz, que se conoce como **fotofosforilación.** Este proceso fue descubierto por Daniel Arnon y sus colaboradores en los años 1950s. En condiciones celulares normales, la fotofosforilación requiere un flujo de electrones, aunque en ciertas condiciones el flujo de electrones y la fotofosforilación pueden ocurrir independientemente el uno del otro. Al flujo de electrones que no va acompañado de fosforilación se le denomina **desacoplado.**

Actualmente está ampliamente aceptado que la fotofosforilación funciona por un **mecanismo quimiosmótico**, propuesto por primera vez por Peter Mitchell en los años 1960s. El mismo mecanismo general dirige la fosforilación durante la respiración aeróbica en bacterias y mitocondrias (véase el capítulo 11), así como la transferencia de muchos iones y metabolitos a través de las membranas (véase el capítulo 6). El mecanismo quimiosmótico parece ser un aspecto unificado en los procesos de las membranas de todas las formas de vida.

En el capítulo 6 analizamos el papel de las ATPasas en la quimiosmosis y en el transporte de iones a través de la membrana plasmática de la célula. El ATP empleado por la ATPasa de la membrana plasmática se sintetiza en el cloroplasto por fotofosforilación y en la mitocondria por fosforilación oxidativa. Aquí nos interesa el uso de la quimiosmosis y las diferencias de concentración de protones a ambos lados de la membrana para producir ATP en el cloroplasto.

El principio básico de la quimiosmosis es que las diferencias en las concentraciones iónicas y los potenciales eléctricos a través de la membrana son una fuente de energía libre que puede ser empleada por la célula. Tal y como describe la segunda ley de la termodinámica (véase la página web del capítulo 2 para un análisis más detallado), cualquier distribución desigual de materia o energía representa una fuente de energía. Las diferencias de **potencial químico** en cualquier especie molecular cuyas concentraciones no sean iguales a ambos lados de la membrana, proporcionan dicha fuente de energía.

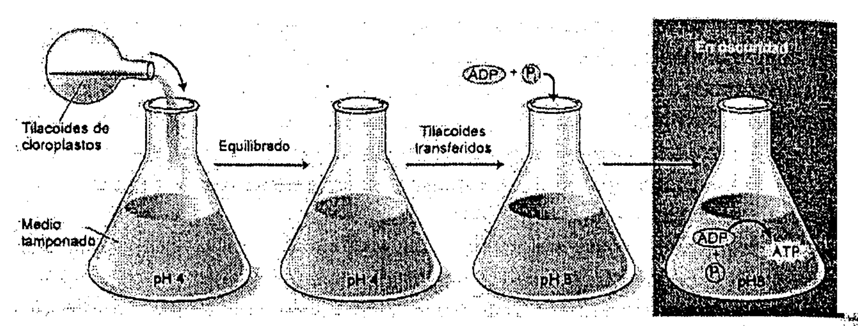


Figura 7.32 Resumen de los experimentos llevados a cabo por Jagendorf y sus colaboradores. Tilacoides de cloroplastos aislados y mantenidos previamente a pH 8 son equilibrados en un medio ácido a pH 4. Los tilacoides se transfirieron entonces a un medio a pH 8 que contiene ADP y P_i. El gradiente de protones generado por esta manipulación proporciona la fuerza que dirige la síntesis de ATP en ausencia de luz. Este experimento verificó una de las predicciones de la teoría quimiosmótica, estableciendo que un potencial químico a través de la membrana puede proporcionar energía para la síntesis de ATP.

Ya hemos explicado anteriormente la naturaleza asimétrica de la membrana fotosintética y el hecho de que el flujo de protones de un lado al otro de la membrana acompaña al flujo de electrones. El sentido del transporte de protones es tal que, como consecuencia del transporte de electrones, el estroma se hace más alcalino (menos H^+) y el lumen más ácido (más H^+) (véanse las figuras 7.22 y 7.29).

Una de las evidencias que apoyan el mecanismo quimiosmótico en la formación de ATP fotosintético se obtuvo a partir de un elegante experimento llevado a cabo por André Jagendorf y sus colaboradores (Figura 7.32). Suspendieron tilacoides de cloroplastos en un tampón a pH 4, de forma que el tampón difundió a través de la membrana de los tilacoides para equilibrar este pH ácido a ambos lados de las membranas. A continuación transfirieron rápidamente los tilacoides a un tampón a pH 8, creándose, por tanto, una diferencia de pH de 4 unidades a través de la membrana de los tilacoides, con el interior ácido respecto al exterior.

Así, encontraron que se formaban grandes cantidades de ATP a partir de ADP y P_i por este proceso, sin aporte de luz o transporte de electrones. Este resultado apoya las predicciones de la hipótesis quimiosmótica que describiremos a continuación.

Mitchell propuso que la energía total disponible para la síntesis de ATP, que llamó **fuerza protón-motriz** (Δp), es la suma de un potencial químico y un potencial eléctrico transmembrana de protones. Estos dos componentes de la fuerza protón motriz desde el exterior de la membrana a la interior vienen definidos por la ecuación:

$$\Delta p = \Delta E - 59\ (pH_i - pH_e) \qquad (7.9)$$

donde ΔE es el potencial eléctrico transmembrana y ($pH^i - pH^e$) (o ΔpH) es la diferencia de pH a través de la membrana. La constante de proporcionalidad (a 25°C) es

59 mV por unidad de pH, por eso una diferencia de pH transmembrana de una unidad es equivalente a un potencial de membrana de 59 mV.

En condiciones de estado estacionario de transporte de electrones en el cloroplasto, el potencial eléctrico de membrana es bastante pequeño, debido al movimiento de iones a través de la membrana, por eso Δp se debe casi por completo al ΔpH. La estequiometría de protones transportados por ATP sintetizado es de 4 H^+ por molécula de ATP (Haraux y De Kouchkovsky 1998).

Además de la necesidad de transportadores móviles de electrones descrita anteriormente, la distribución desigual de los fotosistemas I y II y de la ATP sintasa en la membrana de los tilacoides (véase la figura 7.18) impone ciertas dificultades a la formación del ATP. La ATP sintasa se encuentra sólo en las lamelas del estroma y en los bordes de los apilamientos de los grana. Los protones bombeados a través de la membrana por el complejo citocromo b_6f o los protones producidos por oxidación del agua en el interior de los grana deben moverse lateralmente varias decenas de nanómetros hasta alcanzar la ATP sintasa.

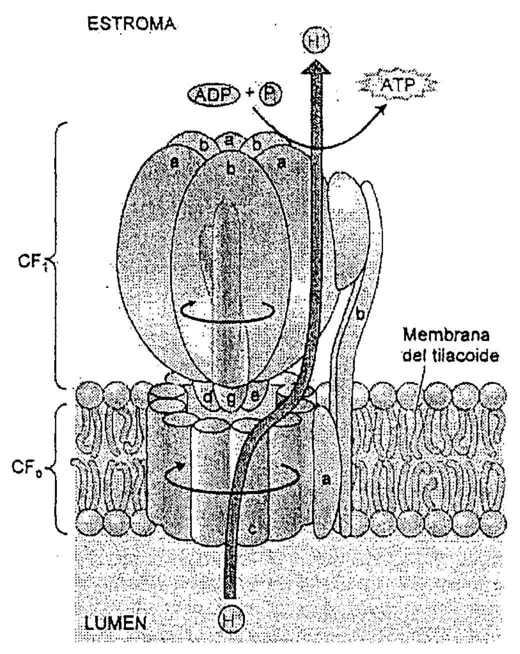
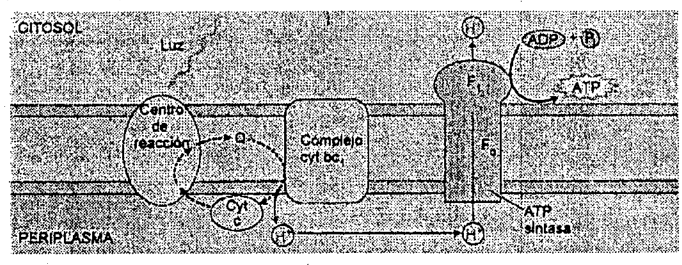
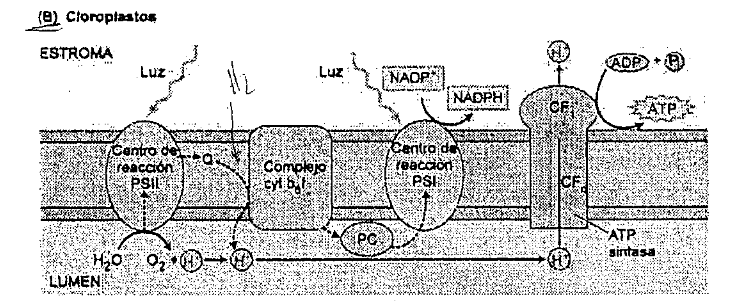


Figura 7.33. Estructura de la ATP sintasa. Este enzima es un gran complejo de muchas subunidades: CF_1 está unido por el lado del estroma de la membrana a una porción integral de membrana conocida como CF_0-CF_1 está formada por cinco polipéptidos diferentes, con una estequiometría α_3, β_3, γ, δ y ε. CF_0 contiene probablemente cuatro polipéptidos diferentes, con una estequiometría a, b, b', c_{12}.





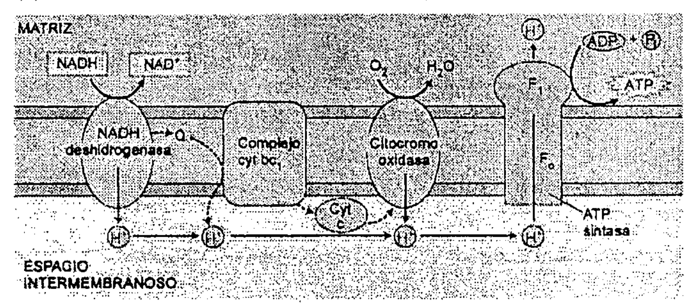


Figura 7.34 Similitudes en el flujo de electrones fotosintético y respiratorio en bacterias, cloroplastos y mitocondrias. En los tres, el flujo de electrones está acoplado al transporte de protones a través de una membrana, creando una fuerza protón motriz transmembrana (Δp). La energía de la fuerza protón motriz es entonces empleada para la síntesis de ATP por la ATP sintasa. (A) El centro de reacción (RC) de la bacteria purpúrea fotosintética lleva a cabo un flujo de electrones cíclico, generando un gradiente de protones por la acción del complejo citocromo bc_1. (B) El cloroplasto lleva a cabo un flujo de electrones no cíclico, oxidando agua y reduciendo $NADP^+$. Los protones son producidos por oxidación del agua y por oxidación de PQH_2 (Q) por el complejo citocromo b_6f. (C) La mitocondria oxida NADH a NAD^+ y reduce el oxígeno a agua. Los protones son bombeados por el enzima NADH deshidrogenasa, el complejo citocromo bc_1 y la citocromo oxidasa. Las ATP sintasas en los tres sistemas tienen una estructura muy similar.)

El ATP es sintetizado por un gran complejo enzimático (400 kDa) conocido como **ATP sintasa, ATPasa** (por la reacción inversa de la hidrólisis del ATP), y **CF_0-CF_1** (Boyer 1997). Este enzima consta de dos partes: una parte hidrofóbica unida a la membrana llamada CF_0, y una parte hidrofílica en el estroma llamada CF_1 (Figura 7.33).

CF_0 parece formar un canal que atraviesa la membrana a través del cual pueden pasar los protones. CF_1 está formado por varios péptidos, incluyendo tres copias de cada uno de los péptidos α y β estructurados alternativamente de forma similar a los gajos de una naranja. Mientras que la parte catalítica está localizada mayoritariamente en el polipéptido β, se cree que muchos de los otros péptidos tienen función reguladora. La porción CF_1 es la parte del complejo que sintetiza ATP.

Se ha determinado la estructura molecular de la ATP sintasa mitocondrial por cristalografía de rayos X (Stock y col. 1999). Aunque existen diferencias significativas entre los enzimas de la mitocondria y del cloroplasto, los dos tienen la misma arquitectura general y probablemente sitios catalíticos idénticos. De hecho, las rutas de transporte electrónico acopladas al transporte de protones a través de la membrana en cloroplastos, mitocondrias y bacterias purpúreas muestra características similares (Figura 7.34). Otro aspecto destacable del mecanismo de la ATP sintasa es que la parte transmembrana y probablemente buena parte de la CF_0 rotan durante la catálisis (Yasuda y col. 2001). Este enzima actúa, de hecho, como un pequeño motor molecular (véanse los **temas web 7.9 y 11.4**).

REPARACIÓN Y REGULACIÓN DE LA MAQUINARIA FOTOSINTÉTICA

Los sistemas fotosintéticos afrontan un desafío especial. Están diseñados para absorber grandes cantidades de energía luminosa y transformarla en energía química. A nivel molecular, la energía de un fotón puede ser dañina, sobre todo en condiciones desfavorables. En exceso, la energía luminosa puede llevar a producir moléculas tóxicas, como superóxidos, oxígeno singlete y peróxidos, y provocar daños si la energía luminosa no se disipa de forma segura (Horton y col. 1996; Asada 1999; Müller y col. 2001). Por ello, los organismos fotosintéticos contienen complejos sistemas reguladores y mecanismos reparadores. Algunos de estos mecanismos regulan el flujo de electrones en el complejo antena, para evitar un exceso de excitación de los centros de reacción y asegurar que los dos fotosistemas funcionen equilibradamente. Aunque muy efectivos, estos procesos no son completamente seguros y, en ocasiones, se producen compuestos tóxicos. Se necesitan pues mecanismos adicionales para eliminar estos compuestos tóxicos, particularmente las formas tóxicas del oxígeno.

A pesar de estos mecanismos de protección, se pueden producir daños, por lo que se necesitan mecanismos adicionales para reparar el sistema. La figura 7.35 muestra una visión general sobre los diferentes niveles de regulación y sistemas de reparación.

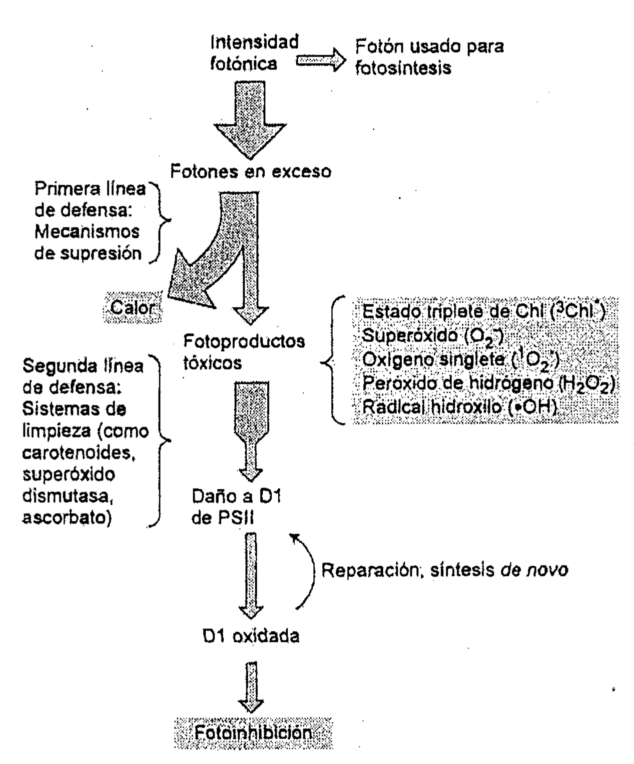


Figura 7.35 Visión general sobre la regulación de la captura de fotones y la protección y reparación por daño fotónico. La protección contra el daño fotónico es un proceso a muchos niveles. La primera línea de defensa es la supresión del daño por exceso de excitación por atenuación en forma de calor. Si esta defensa no es suficiente y se producen fotoproductos tóxicos, una gran variedad de sistemas eliminan los fotoproductos reactivos. Si esta segunda línea de defensa también falla, los fotoproductos pueden dañar a la proteína D1 del fotosistema II. Este daño provoca la fotoinhibición. La proteína D1 se escinde entonces del centro de reacción del PSII y es degradada. La inserción de una nueva proteína D1 recién sintetizada en el centro de reacción de PSII permite formar una unidad funcional. (Según Asada 1999).

Los carotenoides actúan como agentes fotoprotectores

Además de su papel como pigmentos auxiliares, los carotenoides juegan un papel muy importante en la **fotoprotección**. Las membranas fotosintéticas pueden ser dañadas fácilmente por la gran cantidad de energía absorbida por los pigmentos si esa energía no puede ser almacenada fotoquímicamente; por ello es necesario un mecanismo de protección. El mecanismo de fotoprotección es como una válvula de seguridad que elimina el exceso de energía antes de que ésta pueda dañar al organismo. Cuando la energía almacenada en el estado excitado de las clorofilas es rápidamente disipada por transferencia de energía de excitación o fotoquímica, se dice que el estado excitado se ha desactivado.

Si el estado excitado de la clorofila no es desactivado rápidamente por transferencia de energía de excitación o fotoquímica, puede reaccionar con una molécula de oxígeno para formar un estado excitado del oxígeno llamado **oxígeno singlete** ($^1O_2^*$). La elevada reactividad del oxígeno singlete permite que reaccione y dañe muchos compuestos celulares, especialmente los lípidos. Los carotenoides ejercen su acción protectora desactivando rápidamente el estado excitado de la clorofila. El estado excitado del carotenoide no tiene suficiente energía como para formar el oxígeno singlete, por lo que decae a su estado fundamental, perdiendo esta energía en forma de calor.

Los organismos mutantes que carecen de carotenoides no pueden vivir en presencia de luz y de oxígeno molecular, una situación difícil para los organismos fotosintéticos productores de oxígeno. Para bacterias fotosintéticas que no generan O_2, los mutantes que carecen de carotenoides pueden vivir en condiciones de laboratorio si se elimina el oxígeno del medio de crecimiento.

Recientemente se ha descubierto que los carotenoides participan en la atenuación no fotoquímica, un segundo mecanismo protector y regulador.

Algunas xantofilas también participan en la disipación de energía

La atenuación no fotoquímica, el principal proceso de regulación de transferencia de energía de excitación al centro de reacción, puede considerarse como un controlador que ajusta el flujo de excitación al centro de reacción del PSII a un nivel adecuado, dependiendo de la intensidad de la luz y de otras condiciones. El proceso parece ser una parte esencial de la regulación de los complejos antena en la mayoría de algas y plantas.

La atenuación no fotoquímica es la atenuación fluorescente de la clorofila (véase la figura 7.5), por otros procesos distintos al fotoquímico. Como consecuencia de la atenuación no fotoquímica, la mayor parte de las excitaciones en los complejos antena provocadas por una iluminación intensa, son desactivadas en forma de calor (Krause y Weis 1991). Se cree que la atenuación no fotoquímica está implicada en la maquinaria de protección fotosintética frente a la sobreexcitación y el consiguiente daño.

El mecanismo molecular de la atenuación no fotoquímica no se conoce bien, aunque está claro que los factores más importantes son el pH del lumen de los tilacoides y el estado de agregación de los complejos antena. Tres carotenoides, denominados **xantofilas**, están implicados en la atenuación no fotoquímica: violaxantina, anteraxantina y zeaxantina (Figura 7.36).

En presencia de luz intensa, la violaxantina es convertida en zeaxantina, con la anteraxantina como intermediario, por el enzima violaxantina deepoxidasa. Cuando la

Poca intensidad luminosa

Violaxantina

H_2O / NADPH / $2 H + O_2$ — 2 H / Ascorbato / H_2O

Anteraxantina

H_2O / NADPH / $2 H + O_2$ — 2 H / Ascorbato / H_2O

Zeaxantina

Mucha intensidad luminosa

Figura 7.36 Estructura química de la violaxantina, anteraxantina y zeaxantina. El estado altamente atenuado del fotosistema II está asociado a la zeaxantina y el estado no atenuado a la violaxantina. Hay enzimas que interconvierten estos dos carotenoides, con la anteraxantina como intermediario, en repuesta a condiciones cambiantes, especialmente en la intensidad de luz. La formación de la zeaxantina emplea ascorbato como cofactor y la violaxantina requiere NADPH para su formación. (Según Pfundel y Bilger 1994).

intensidad luminosa disminuye, el proceso se invierte. Se cree que la unión de protones y zeaxantina a las proteínas del complejo antena provoca cambios conformacionales que conducen a la desactivación y a la disipación en forma de calor (Demmig-Adams y Adams 1992; Horton y col. 1996). La atenuación no fotoquímica parece estar asociada preferentemente a los complejos antena periféricos del fotosistema II, las proteínas PsbS (Li y col. 2000).

El centro de reacción del fotosistema II es dañado fácilmente

Otro efecto que parece ser un factor principal en la estabilidad del aparato fotosintético es la fotoinhibición, que se produce cuando sobre el centro de reacción del

PSII incide un exceso de excitación, provocando su inactivación y daño (Long y col. 1994). La fotoinhibición integra un conjunto complejo de procesos moleculares, definidos como la inhibición de la fotosíntesis por exceso de luz.

Como se analizará en el capítulo 9, la fotoinhibición es reversible en sus primeras fases. Una fotoinhibición prolongada, sin embargo, daña al sistema de forma que el complejo del centro de reacción del PSII ha de ser desensamblado y reparado (Melis 1999). La principal diana de este daño es la proteína D1 que forma parte del complejo del centro de reacción del PSII (véase la figura 7.24). Cuando D1 es dañada por un exceso de luz, debe ser eliminada de la membrana y sustituida por una molécula recién sintetizada. Los otros componentes del centro de reacción del PSII no resultan dañados por un exceso de excitación. Se cree que son reciclados, de forma que la proteína D1 es el único componente que necesita ser sintetizado.

El fotosistema I está protegido frente a especies reactivas del oxígeno

El fotosistema I es especialmente vulnerable al daño por especies reactivas de oxígeno. La ferredoxina aceptora del PSI es un reductor muy fuerte que puede reducir fácilmente el oxígeno molecular a superóxido (O_2^-). Esta reducción compite con la vía normal de los electrones hacia la reducción del $NADP^+$ y otros procesos. El superóxido es una de las especies reactivas del oxígeno que puede dañar las membranas biológicas. El superóxido así formado puede ser eliminado por la acción de una serie de enzimas, que incluyen la superóxido dismutasa y la ascorbato peroxidasa (Asada 1999).

El apilamiento de tilacoides permite el reparto de energía entre los fotosistemas

El hecho de que la fotosíntesis en plantas superiores esté dirigida por dos fotosistemas con propiedades diferentes en la absorción de la luz plantea un problema especial. Si la proporción de energía canalizada a los PSI y PSII no está equilibrada con precisión, y las condiciones son tales que la tasa fotosintética está limitada por la luz disponible (baja intensidad de luz), el flujo electrónico estará limitado por el fotosistema que esté recibiendo menos energía. La situación más eficiente sería aquella en la que el aporte de energía fuera el mismo para los dos fotosistemas. Sin embargo, ninguna ordenación única de los pigmentos cumpliría esta condición: tanto la intensidad de la luz a distintas horas del día como la distribución espectral tienden a favorecer un sistema u otro (Trissl y Wilhelm 1993; Allen y Forsberg 2001).

Este problema puede ser resuelto por un mecanismo que intercambie energía de un fotosistema a otro, dependiendo de las condiciones. De hecho, estos mecanismos

reguladores se han encontrado en distintas condiciones experimentales. El hecho de que el rendimiento cuántico de la fotosíntesis sea prácticamente independiente de la longitud de onda (véase la figura 7.12) sugiere la existencia de este mecanismo.

Las membranas de los tilacoides contienen una proteína quinasa que puede fosforilar un residuo específico de treonina de la superficie del complejo LHCII, una de las proteínas del complejo antena asociado a la membrana descrito con anterioridad en este capítulo (véase la figura 7.20). Cuando el LHCII no está fosforilado, transfiere más energía al fotosistema II, y cuando está fosforilado transfiere más energía al fotosistema I (Haldrup y col. 2001).

La quinasa es activada cuando la plastoquinona, uno de los transportadores de electrones entre el PSI y el PSII, se acumula en el estado reducido. La plastoquinona reducida se acumula cuando el PSII está siendo activado más frecuentemente que el PSI. El LHCII fosforilado migra entonces desde las regiones apiladas de la membrana a las regiones no apiladas (véase la figura 7.18), probablemente debido a las interacciones repulsivas por cargas negativas entre membranas adyacentes.

La migración lateral de LHCII permite cambiar el equilibrio de energía hacia el fotosistema I, que está localizado en las lamelas del estroma (tilacoides no apilados), lejos del PSII que se encuentra en las membranas apiladas de los grana. Esta situación se denomina *estado 2*. Si la plastoquinona es mayoritariamente oxidada debido al exceso de excitación del fotosistema I, la quinasa es desactivada y el nivel de fosforilación del LHCII disminuye por acción de una fosfatasa asociada a la membrana. Entonces el LHCII retorna a los grana, volviendo el sistema al *estado 1*. El resultado neto es un control preciso de la distribución de energía entre los fotosistemas, permitiendo un uso más eficiente de la energía disponible.

GENÉTICA, ENSAMBLAJE Y EVOLUCIÓN DE LOS SISTEMAS FOTOSINTÉTICOS

Los cloroplastos tienen su propio DNA, mRNA y la maquinaria de síntesis proteica, aunque algunas proteínas cloroplásticas son codificadas por el genoma nuclear y transportadas al cloroplasto. En este apartado consideraremos la genética, ensamblaje y evolución de los principales componentes de los cloroplastos.

Los genomas completos del cloroplasto, de cianobacterias y nucleares han sido ya secuenciados

Se ha secuenciado el genoma completo del cloropasto de varios organismos. El DNA del cloroplasto es circular y tiene un tamaño del orden de 120-160 kilobases.

El genoma del cloroplasto contiene las secuencias codificantes de unas 120 proteínas. Algunas de estas secuencias de DNA codifican proteínas que todavía no han sido caracterizadas. Tampoco está claro si todos estos genes son transcritos a mRNA y traducidos a proteínas, pero parece probable que haya algunas proteínas constituyentes de los cloroplastos que todavía deban ser identificadas.

Se ha secuenciado el genoma completo de la cianobacteria *Synechocystis* (cepa PCC 6803) y de la planta superior *Arabidopsis*, y se ha completado el genoma de cultivos vegetales importantes como arroz y maíz (Kotani y Tabata 1998; Arabidopsis Genome Initiative 2000). Los datos genómicos del DNA de cloroplastos y nucleares aportarán una nueva perspectiva sobre el funcionamiento de la fotosíntesis, así como de otros procesos vegetales.

Los genes de los cloroplastos muestran patrones de herencia no mendelianos

Los cloroplastos y las mitocondrias se reproducen por división y no por **síntesis de novo**. Este modo de reproducción no es sorprendente, dado que estos orgánulos contienen información genética que no está presente en el núcleo. Durante la división celular, los cloroplastos se reparten entre las dos células hijas. En la mayoría de las plantas sexuales, sin embargo, los cloroplastos son aportados al zigoto únicamente desde la planta madre. En estas plantas, el patrón normal de herencia mendeliana no se aplica a los genes codificados por los cloroplastos, porque el zigoto recibe los cloroplastos sólo de uno de los parentales. El resultado es una **herencia no mendeliana** o **herencia materna**. Hay numerosos caracteres que se heredan de este modo; uno de ellos es la resistencia a herbicidas analiza en el **tema web 7.10**.

Muchas proteínas del cloroplasto son importadas desde el citoplasma

Las proteínas del cloroplasto son codificadas bien por el DNA del cloroplasto bien por el DNA nuclear. Las proteínas codificadas por el cloroplasto son sintetizadas por ribosomas del cloroplasto, mientras que las codificadas por el genoma nuclear son sintetizadas por ribosomas del citoplasma, para ser transportadas al interior del cloroplasto. Muchos de los genes nucleares contienen intrones, es decir, secuencias de bases que no codifican la proteína. El mRNA es procesado para eliminar los intrones y, entonces, las proteínas se sintetizan en el citoplasma.

Los genes necesarios para el funcionamiento del cloroplasto están distribuidos entre el genoma nuclear y el del cloroplasto, sin que exista un patrón evidente, aunque siendo ambos necesarios para la viabilidad del cloroplasto. Algunos de los genes de

los cloroplastos son necesarios para otras funciones celulares, como la síntesis de grupos hemo y lípidos. El control de la expresión de los genes nucleares que codifican proteínas del cloroplasto es complejo, ya que implica una regulación dependiente de la luz mediada por el fitocromo (véase el capítulo 17) y la luz del azul (véase el capítulo 18), así como otros factores (Bruick y Mayfield 1999; Wollman y col. 1999).

El transporte de proteínas cloroplásticas desde el citosol al cloroplasto es un proceso fuertemente regulado (Chen y Schnell 1999). Por ejemplo, el enzima rubisco (véase el capítulo 8), que participa en la fijación del carbono, tiene dos tipos de subunidades, una subunidad grande codificada por el genoma del cloroplasto y una subunidad pequeña codificada por el genoma nuclear. Las subunidades pequeñas de la rubisco son sintetizadas en el citoplasma y transportadas al interior del cloroplasto, donde son ensambladas.

En este y otros casos conocidos, las proteínas del cloroplasto codificadas por el genoma nuclear son sintetizadas como precursores proteicos que contienen una secuencia de aminoácidos en el extremo N-terminal llamada **péptido de tránsito.** Esta secuencia terminal dirige a la proteína precursora al cloroplasto, facilita su paso a través de las membranas externa e interna y entonces es eliminada. El transportador electrónico plastocianina es una proteína hidrosoluble que es codificada por el genoma nuclear, pero que actúa en el lumen del cloroplasto. Por tanto, tiene que atravesar tres membranas para llegar a su destino en el lumen. El péptido de tránsito de la plastocianina es muy grande y es procesado en más de una etapa.

La biosíntesis y degradación de clorofilas son rutas complejas

Las clorofilas son moléculas complejas finamente adaptadas a las funciones de absorción de luz, transferencia de energía y transferencia de electrones, funciones que llevan a cabo en la fotosíntesis (véase la figura 7.6). Como otras biomoléculas, las clorofilas se sintetizan en rutas biosintéticas en las que se utilizan moléculas sencillas a modo de unidades básicas para construir una molécula más compleja (Porra 1997; Beale 1999). Cada etapa de la biosíntesis está catalizada enzimáticamente.

La ruta biosintética de las clorofilas consta de más de una docena de pasos (véase el **tema web 7.11**). El proceso puede dividirse en varias fases (Figura 7.37), cada una de las cuales puede ser considerada por separado, pero que en la célula están muy coordinadas y reguladas. Esta regulación es esencial porque la clorofila libre y muchos de los intermediarios fotosintéticos pueden dañar componentes celulares. El daño es debido a que las clorofilas absorben la luz eficientemente, pero en ausencia de proteínas auxiliares, carecen de una ruta para dispersar la energía absorbida, dando lugar a la formación del oxígeno singlete.

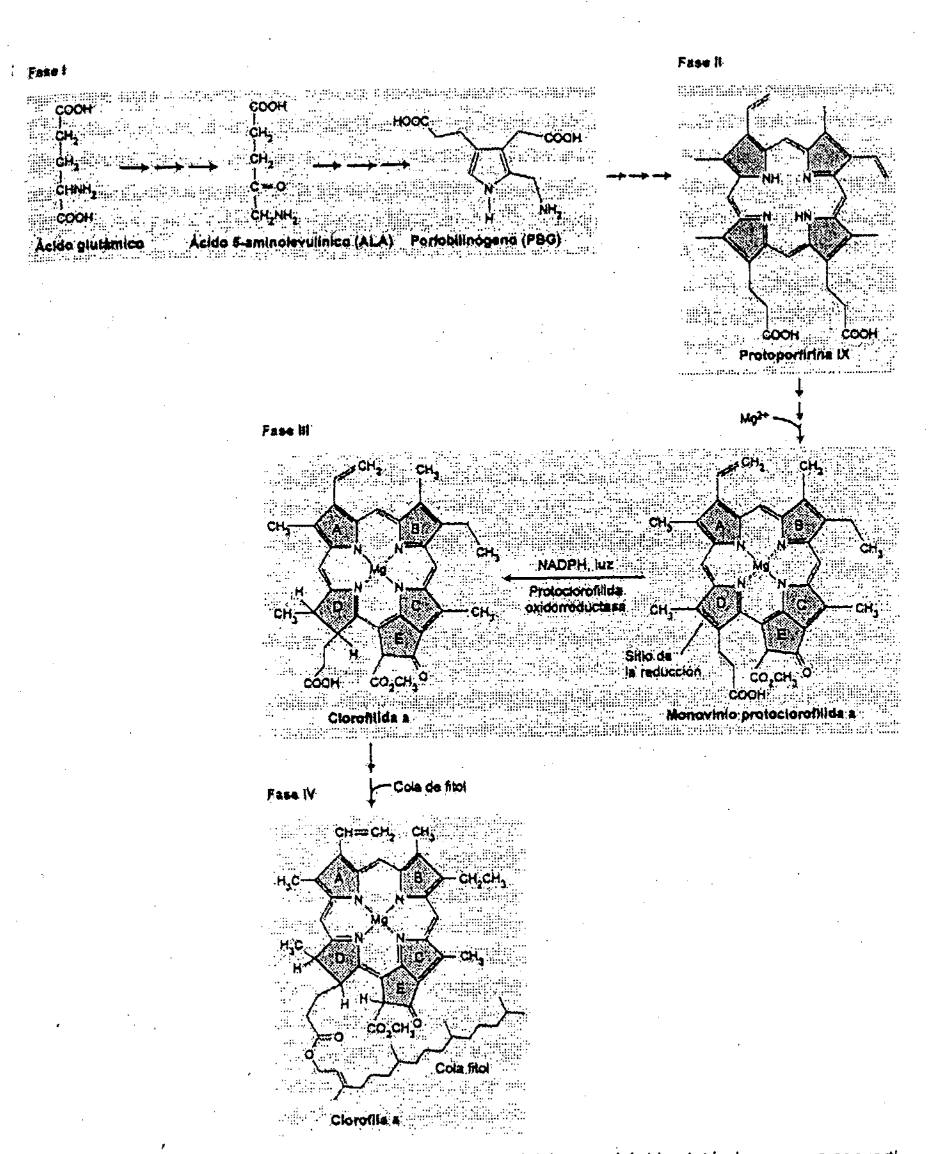


Figura 7.37 La ruta biosintética de las clorofilas. La ruta se inicia con el ácido glutámico, que es convertido a ácido 5-aminolevulínico (ALA). Dos moléculas de ALA se condensan para formar el porfobilinógeno (PBG). Cuatro moléculas de PBG se unen para formar la protoporfirina IX. Entonces, se inserta el magnesio (Mg) y se produce la ciclación del anillo E dependiente de la luz, la reducción del anillo D y se completa el proceso con la unión de la cola fitol. Muchas etapas del proceso están omitidas en esta figura.

La ruta de degradación de las moléculas de clorofila en hojas senescentes es muy diferente a la ruta biosintética (Matile y col. 1996). La primera etapa implica la eliminación de la cola de fitol por el enzima clorofilasa, seguida de la eliminación del magnesio por el enzima magnesio dequelatasa. A continuación se abre la estructura de la porfirina mediante una oxigenasa dependiente de oxígeno para formar una cadena tetrapirrólica abierta.

A continuación, el tetrapirrol es modificado para dar lugar a productos hidrosolubles incoloros. Estos metabolitos no coloreados son exportados desde los cloroplastos senescentes y transportados a la vacuola, donde se almacenan de forma permanente. Los metabolitos clorofílicos no se procesan o reciclan más, aunque las proteínas asociadas a ellas en los cloroplastos son posteriormente recicladas como nuevas proteínas. Se cree que el reciclado de estas proteínas es una forma importante de ahorro de nitrógeno en las plantas.

Los organismos fotosintéticos complejos han evolucionado desde formas más simples

El complicado aparato fotosintético encontrado en plantas superiores y algas es el producto final de una larga secuencia evolutiva. Se puede aprender mucho de este proceso evolutivo, a partir del análisis de organismos fotosintéticos procariotas más simples, incluyendo las bacterias fotosintéticas anaerobias y las cianobacterias.

El cloroplasto es un orgánulo celular semiautónomo, con su propio DNA y un aparato de síntesis proteica completo. Muchas de las proteínas que forman parte del aparato fotosintético, así como clorofilas y lípidos, se sintetizan en el cloroplasto. Otras proteínas son importadas desde el citoplasma y codificadas por genes nucleares. ¿De dónde viene esta curiosa división de funciones? La mayoría de expertos coinciden en que el cloroplasto es el descendiente de una relación simbiótica entre una cianobacteria y una célula eucariota sencilla no fotosintética. Este tipo de relación se denomina **endosimbiosis** (Cavalier-Smith 2000).

Originariamente, las cianobacterias eran capaces de vivir independientemente, pero con el tiempo, una gran parte de la información genética necesaria para funciones celulares normales se perdió y una gran parte de la información necesaria para sintetizar el aparato fotosintético se transfirió al núcleo. A partir de ese momento el cloroplasto ya no pudo vivir fuera de su huésped y se convirtió en una parte integral de la célula.

En algunos tipos de algas se cree que los cloroplastos proceden de endosimbiosis de organismos eucariotas fotosintéticos (Palmer y Delwiche 1996). En estos organismos los cloroplastos están rodeados por tres y en algunos casos cuatro membranas, consideradas como remanentes de las membranas plasmáticas de los organismos primitivos. Se cree que la mitocondria también se originó tras procesos de endosimbiosis, como acontecimiento muy anterior al de la formación del cloroplasto.

Las respuestas a otras cuestiones relacionadas con la evolución de la fotosíntesis son menos claras. Entre ellas, la naturaleza de los sistemas fotosintéticos primitivos, cómo se asociaron los dos fotosistemas y el origen evolutivo del complejo productor de oxígeno (Blankenship y Hartman 1998; Xiong y col. 2000).

RESUMEN

La fotosíntesis es el proceso de almacenamiento de la energía solar llevado a cabo por plantas, algas y bacterias fotosintéticas. Los fotones absorbidos excitan las moléculas de clorofila, y estas clorofilas excitadas pueden dispersar esta energía en forma de calor, fluorescencia, transferencia de energía o fotoquímicmentea. La luz es absorbida principalmente por los complejos antena, que comprenden las clorofilas, los pigmentos auxiliares y las proteínas, y están localizados en las membranas de los tilacoides de los cloroplastos.

Los pigmentos fotosintéticos de las antenas transfieren la energía a unos complejos proteína-clorofila especializados conocidos como centros de reacción. El centro de reacción contiene complejos de proteínas de varias subunidades y cientos, o miles, de clorofilas en algunos organismos. Los complejos antena y los centros de reacción son componentes integrales de la membrana de los tilacoides. Los centros de reacción inician una compleja serie de reacciones químicas que capturan la energía en forma de enlaces químicos.

El rendimiento cuántico establece la relación entre la cantidad de cuantos absorbidos y el rendimiento de un producto fotoquímico formado en las reacciones dependientes de la luz. En las primeras etapas de la fotosíntesis, el rendimiento cuántico es aproximadamente 0,95, indicando que prácticamente cada fotón que es absorbido provoca una separación de cargas en el centro de reacción.

Las plantas y algunos procariotas fotosintéticos tienen dos centros de reacción que funcionan en serie, el fotosistema I y el fotosistema II. Los dos fotosistemas están separados espacialmente: el PSI se encuentra, exclusivamente, en las membranas no apiladas del estroma y el PSII se encuentra principalmente en las membranas apiladas de los grana. Las clorofilas del centro de reacción del PSI tienen un máximo de absorción a 700 nm, y las del PSII a 680 nm. PSII y PSI realizan un transporte de electrones no cíclico, oxidando el agua a oxígeno molecular y reduciendo el $NADP^+$ a NADPH. Es muy difícil, energéticamente hablando, oxidar el agua para transformarla en oxígeno molecular y el complejo fotosintético productor de oxígeno es el único sistema bioquímico capaz de oxidar al agua, y así proporcionar la mayor parte del oxígeno de la atmósfera terrestre. La fotooxidación del agua está modelada por un

mecanismo del estado S en cinco etapas. El manganeso es un cofactor esencial en el proceso de oxidación del agua, y los cinco estados S parecen representar sucesivos estados oxidados del enzima que contiene manganeso.

Un residuo de tirosina de la proteína D1 del centro de reacción del PSII actúa como un transportador electrónico entre el complejo productor de oxígeno y el P680. La feofitina y dos plastoquinonas son dos transportadores electrónicos entre el P680 y el gran complejo citocromo b_6f. La plastocianina es el transportador electrónico entre el citocromo b_6f y el P700. Los transportadores electrónicos que aceptan los electrones del P700 son agentes reductores muy fuertes, e incluyen una quinona y tres proteínas ferrosulfuradas unidas a la membrana que se conocen como ferredoxinas. El flujo electrónico finaliza con la reducción del $NADP^+$ a NADPH por una ferredoxina-NADP reductasa unida a la membrana.

Una parte de la energía de los fotones se almacena inicialmente como energía de potencial químico, principalmente en forma de diferencia de pH a través de la membrana de los tilacoides. Esta energía se convierte rápidamente en energía química para la formación de ATP por acción de un complejo enzimático conocido como ATP sintasa. La fotofosforilación del ADP por la ATP sintasa se realiza por un mecanismo quimiosmótico. El flujo de electrones fotosintético está acoplado al transporte de protones a través de la membrana de los tilacoides, alcalinizando el estroma y acidificando el lumen. Este gradiente de protones dirige la síntesis del ATP con una estequiometría de cuatro protones por ATP. El NADPH y el ATP proporcionan la energía necesaria para la reducción del carbono.

El exceso de luz puede dañar los sistemas fotosintéticos y existen varios mecanismos que minimizan dicho daño. Los carotenoides actúan como agentes fotoprotectores que desactivan rápidamente el estado excitado de las clorofilas. Los cambios en el estado de fosforilación de las proteínas de los complejos antena pueden variar la distribución de energía entre los fotosistemas I y II cuando hay un desequilibrio entre la energía absorbida por cada fotosistema. El ciclo de las xantofilas también contribuye a la disipación del exceso de energía por atenuación no fotoquímica.

Los cloroplastos contienen DNA y codifican y sintetizan algunas de las proteínas que son esenciales en la fotosíntesis. El resto de proteínas son codificadas por el DNA nuclear, sintetizadas en el citoplasma y transportadas al cloroplasto. Las clorofilas se sintetizan en una ruta biosintética que incluye más de doce pasos, cada uno de ellos cuidadosamente regulados. Una vez sintetizados, las proteínas y los pigmentos son ensamblados en la membrana de los tilacoides.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

7.1 Principios de espectrofotometría
La espectroscopia es una técnica clave para el estudio de las reacciones luminosas.

7.2 La distribución de clorofilas y otros pigmentos fotosintéticos
El contenido de clorofilas y otros pigmentos fotosintéticos varía en el reino vegetal.

7.3 Rendimiento cuántico
El rendimiento cuántico mide la eficiencia de la luz en un proceso fotobioquímico.

7.4 Efectos antagonistas de la luz en la oxidación del citocromo
Los fotosistemas I y II se descubrieron mediante ingeniosos experimentos.

7.5 Estructuras de dos centros de reacción bacterianos
Los estudios de difracción de rayos X resolvieron la estructura atómica del centro de reacción del fotosistema II.

7.6 Potenciales medios y reacciones redox
La medida de los potenciales medios es útil para analizar el flujo de electrones a través del fotosistema II.

7.7 Formación del oxígeno
El mecanismo del estado S es un modelo útil para explicar la ruptura del agua en el PSII.

7.8 Fotosistema I
El centro de reacción del PSI es un complejo multiproteico.

7.9 ATP sintasa
La ATP sintasa funciona como un motor molecular.

7.10 Modo de acción de algunos herbicidas
Algunos herbicidas matan a las plantas bloqueando el flujo de transporte electrónico.

7.11 Biosíntesis de clorofilas
La clorofila y el grupo hemo comparten los primeros pasos de sus rutas biosintéticas.

ENSAYOS WEB
7.1 Una nueva visión de la estructura del cloroplasto
Los estrómulos extienden el alcance de los cloroplastos

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Allen J. F. y Forsberg J. (2001) Molecular recognition in thylakoid structure and function. *Trends Plant Sci.* 6: 317–326.
Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796–815.
Asada K. (1999) The water–water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 601–639.
Avers C. J. (1985) *Molecular Cell Biology*. Addison-Wesley, Reading, MA.
Barber J., Nield N., Morris E. P. y Hankamer B. (1999) Subunit positioning in photosystem II revisited. *Trends Biochem. Sci.* 24: 43–45.
Beale S. I. (1999) Enzymes of chlorophyll biosynthesis. *Photosynth. Res.* 60: 43–73.
Becker W. M. (1986) *The World of the Cell*. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.
Berry E. A., Guergova-Kuras M., Huang L.-S. y Crofts A. R. (2000) Structure and function of cytochrome *bc* complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 69: 1005–1075.
Blankenship R. E. (2002) *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Blackwell Science, Oxford.
Blankenship R. E. y Hartman H. (1998) The origin and evolution of oxygenic photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.* 23: 94–97.
Blankenship R. E. y Prince R. C. (1985) Excited-state redox potentials and the Z scheme of photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.* 10: 382–383.
Boyer P. D. (1997) The ATP synthase: A splendid molecular machine. *Annu. Rev. Biochem.* 66: 717–749.
Brettel K. (1997) Electron transfer and arrangement of the redox cofactors in photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta* 1318: 322–373.
Bruick R. K. y Mayfield S. P. (1999) Light-activated translation of chloroplast mRNAs. *Trends Plant Sci.* 4: 190–195.
Buchanan B. B., Gruissem., W. y Jones R. L., eds. (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Amer. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD.

Cavalier-Smith T. (2000) Membrane heredity and early chloroplast evolution. *Trends Plant Sci.* 5: 174–182.
Chen X. y Schnell D. J. (1999) Protein import into chloroplasts. *Trends Cell Biol.* 9: 222–227.
Chitnis P. R. (2001) Photosystem I: Function and physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 593–626.
Cramer W. A., Soriano G. M., Ponomarev M., Huang D., Zhang H., Martinez S. E. y Smith J. L. (1996) Some new structural aspects and old controversies concerning the cytochrome b_6f complex of oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 477–508.
Deisenhofer J. y Michel H. (1989) The photosynthetic reaction center from the purple bacterium *Rhodopseudomonas viridis*. *Science* 245: 1463–1473.
Demmig-Adams B. y Adams W. W., III. (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 599–626.
Green B. R. y Durnford D. G. (1996) The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 685–714.
Grossman A. R., Bhaya D., Apt K. E. y Kehoe D. M. (1995) Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: Diversity, control, and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 29: 231–288.
Haldrup A., Jensen P. E., Lunde C. y Scheller H. V. (2001) Balance of power: A view of the mechanism of photosynthetic state transitions. *Trends Plant Sci.* 6: 301–305.
Haraux F. y De Kouchkovsky Y. (1998) Energy coupling and ATP synthase. *Photosynth. Res.* 57: 231–251.
Hoganson C. W. y Babcock G. T. (1997) A metalloradical mechanism for the generation of oxygen from water in photosynthesis. *Science* 277: 1953–1956.
Horton P., Ruban A. V. y Walters R. G. (1996) Regulation of light harvesting in green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 655–684.
Jordan P., Fromme P., Witt H. T., Klukas O., Saenger W. y Krauss N. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. *Nature* 411: 909–917.
Karplus P. A., Daniels M. J. y Herriott J. R. (1991) Atomic structure of ferredoxin-$NADP^+$ reductase: Prototype for a structurally novel flavoenzyme family. *Science* 251: 60–66.
Kotani H. y Tabata S. (1998) Lessons from sequencing of the genome of a unicellular cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 151–171.
Krause G. H. y Weis E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 313–350.

Kühlbrandt W., Wang D. N. y Fujiyoshi Y. (1994) Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature* 367: 614–621.
Li X. P., Bjorkman O., Shih C., Grossman A. R., Rosenquist M., Jansson S. y Niyogi K. K. (2000) A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature* 403: 391–395.
Long S. P., Humphries S. y Falkowski P. G. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 633–662.
Matile P., Hörtensteiner S., Thomas H. y Kräutler B. (1996) Chlorophyll breakdown in senescent leaves. *Plant Physiol.* 112: 1403–1409.
Melis A. (1999) Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: What modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends Plant Sci.* 4: 130–135.
Müller P., Li X.-P. y Niyogi K. K. (2001) Non-photochemical quenching: A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125: 1558–1566.
Okamura M. Y., Paddock M. L., Graige M. S. y Feher G. (2000) Proton and electron transfer in bacterial reaction centers. *Biochim. Biophys. Acta* 1458: 148–163.
Palmer J. D. y Delwiche C. F. (1996) Second-hand chloroplasts and the case of the disappearing nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7432–7435.
Paulsen H. (1995) Chlorophyll *a/b*-binding proteins. *Photochem. Photobiol.* 62: 367–382.
Pfündel E. y Bilger W. (1994) Regulation and the possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynth. Res.* 42: 89–109.
Porra R. J. (1997) Recent progress in porphyrin and chlorophyll biosynthesis. *Photochem. Photobiol.* 65: 492–516.
Pullerits T. y Sundström V. (1996) Photosynthetic light-harvesting pigment-protein complexes: Toward understanding how and why. *Acc. Chem. Res.* 29: 381–389.
Stock D., Leslie A. G. W. y Walker J. E. (1999) Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science* 286: 1700–1705.
Tommos C. y Babcock G. T. (1999) Oxygen production in nature: A light-driven metalloradical enzyme process. *Acc. Chem. Res.* 37: 18–25.
Trebst A. (1986) The topology of the plastoquinone and herbicide binding peptides of photosystem II in the thylakoid membrane. *Z. Naturforsch. Teil C.* 240–245.
Trissl H.-W. y Wilhelm C. (1993) Why do thylakoid membranes from higher plants form grana stacks? *Trends Biochem. Sci.* 18: 415–419.
van Grondelle R., Dekker J. P., Gillbro T. y Sundström V. (1994) Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1187: 1–65.
Wollman F.-A., Minai L. y Nechushtai R. (1999) The biogenesis and assembly of photosynthetic proteins in thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1411: 21–85.
Xiong J., Fisher W., Inoue K., Nakahara M. y Bauer C. E. (2000) Molecular evidence for the early evolution of photosynthesis. *Science* 289: 1724–1730.

achandra V. K., Sauer K. y Klein M. P. (1996) Manganese cluster in photosynthesis: Where plants oxidize water to dioxygen. *Chem. Rev.* 96: 2927–2950.
asuda R., Noji H., Yoshida M., Kinosita K. e Itoh H. (2001) Resolution of distinct rotational substeps by submillisecond kinetic analysis of F_1-ATPase. *Nature* 410: 898–904.
ouni A., Witt H.-T., Kern J., Fromme P., Krauss N., Saenger W. y Orth P. (2001) Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution. *Nature* 409: 739–743.

Capítulo 8

FOTOSÍNTESIS: LAS REACCIONES DEL CARBONO

EN EL CAPÍTULO 5 ANALIZAMOS los requerimientos de nutrientes minerales y luz en las plantas, necesarios para crecer y completar su ciclo vital. Debido a que los organismos vivos interaccionan entre ellos y con su entorno, los nutrientes minerales siguen un ciclo en la biosfera. Estos ciclos implican interacciones complejas y cada ciclo es crítico en sí mismo. Dado que la cantidad de materia permanece constante en la biosfera, se debe aportar energía para mantener los ciclos operativos. De lo contrario, el aumento de la entropía hace que el flujo de materia finalmente se detenga.

Los organismos autótrofos tienen la capacidad de convertir fuentes de energía físicas y químicas en carbohidratos, en ausencia de sustratos orgánicos. La mayor parte de la energía externa se consume en las transformaciones del CO_2 a un estado reducido compatible con las necesidades de la célula (–CHOH–).

Estimaciones recientes indican que cada año se convierten en biomasa unos 200.000 millones de toneladas de CO_2. Sobre un 40% de esta masa se atribuye a las actividades del fitoplancton marino. La mayoría de este carbono se incorpora a los compuestos orgánicos por las reacciones de reducción del carbono asociadas a la fotosíntesis.

En el capítulo 7 vimos cómo la oxidación fotoquímica del agua a oxígeno molecular está acoplada a la generación de ATP y de nicotinamina adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH) por las reacciones que tienen lugar en las membranas de los tilacoides de los cloroplastos. Las reacciones que catalizan la reducción del CO_2 a carbohidratos están acopladas al consumo de NADPH y ATP por enzimas que se encuentran en el estroma, la fase soluble de los cloroplastos.

Durante mucho tiempo se creyó que las reacciones del estroma eran reacciones independientes de la luz y, por ello, se las denominó las *reacciones de la fase oscura.* Sin embargo, como las reacciones localizadas en el estroma dependen de los productos de los procesos fotoquímicos, y están también directamente reguladas por la luz, es más correcto referirse a ellas como las *reacciones del carbono de la fotosíntesis.*

En este capítulo examinaremos las reacciones cíclicas que permiten la fijación y reducción del CO_2, además de considerar cómo el fenómeno de la fotorrespiración catalizada por la carboxilasa altera la eficiencia de la fotosíntesis. Este capítulo también describirá los mecanismos bioquímicos de concentración de dióxido de carbono que permiten a las plantas mitigar el impacto de la fotorrespiración: bombas de CO_2, metabolismo C_4 y metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Por último, concluiremos el capítulo analizando la síntesis de sacarosa y almidón.

EL CICLO DE CALVIN

Todos los organismos eucariotas fotosintéticos, desde el alga más primitivo hasta la angiosperma más evolucionada, reducen el CO_2 a carbohidratos por el mismo mecanismo básico, el ciclo fotosintético de reducción del carbono descrito originalmente para plantas C_3 (el **ciclo de Calvin** o **ciclo de reducción de pentosas fosfato** [**RPP**]). Otras rutas metabólicas asociadas con la fijación fotosintética del CO_2, como el ciclo fotosintético de asimilación del carbono C_4 y el ciclo fotorrespiratorio de oxidación del carbono, son auxiliares o dependientes del ciclo básico de Calvin.

En esta sección examinaremos cómo se fija el CO_2 por el ciclo de Calvin, utilizando el ATP y el NADPH generado por las reacciones luminosas (Figura 8.1), y cómo se regula el ciclo de Calvin.

EL ciclo Calvin tiene tres etapas: carboxilación, reducción y regeneración

El ciclo de Calvin se propuso como resultado de una serie de experimentos elegantes realizados por Melvin Calvin y sus colaboradores en los años 1950s, y por los

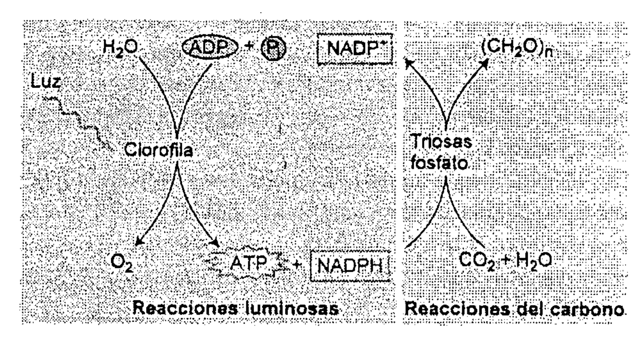


Figura 8.1 Las reacciones luminosas y las reacciones del carbono de la fotosíntesis. La luz es necesaria para generar ATP y NADPH. El ATP y el NADPH son consumidos en las reacciones del carbono, que reducen el CO_2 a carbohidratos (triosas fosfato).

que obtuvieron el premio Nóbel en 1961 (véase el **tema web 8.1**). En el ciclo de Calvin, el CO_2 y el agua del medio se combinan enzimáticamente con una molécula aceptora de cinco carbonos para generar dos moléculas de un intermediario de tres carbonos. Este intermediario (el 3-fosfoglicerato) es reducido a carbohidratos empleando el ATP y el NADPH generado fotoquímicamente. Este ciclo se completa con la regeneración del aceptor de cinco carbonos (ribulosa-1,5-bisfosfato, abreviado RuBP).

El ciclo de Calvin consta de tres etapas (Figura 8.2):

1. *Carboxilación* del aceptor de CO_2, ribulosa-1,5-bisfosfato, para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato, el primer intermediario estable del ciclo de Calvin.
2. *Reducción* del 3-fosfoglicerato, formando gliceraldehído-3-fosfato, un carbohidrato.
3. *Regeneración* del aceptor de CO_2, ribulosa-1,5-bisfosfato, a partir del gliceraldehído-3-fosfato.

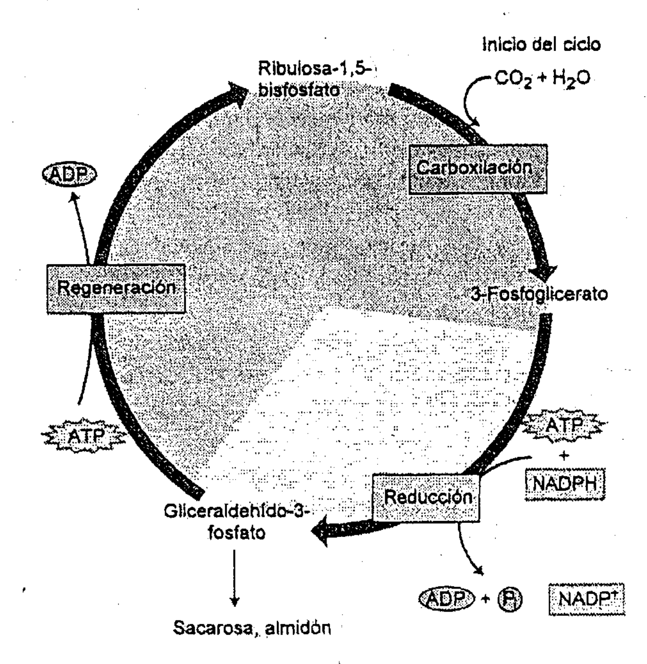


Figura 8.2 El ciclo de Calvin se realiza en tres etapas: (1) carboxilación, durante la cual el CO_2 se une covalentemente a un esqueleto carbonado; (2) reducción, durante la cual se forma el carbohidrato, a expensas del ATP obtenido fotoquímicamente y de equivalentes reductores en forma de NADPH; y (3) regeneración, durante la cual se reconstruye la molécula aceptora de CO_2, la ribulosa-1,5-bisfosfato.

El carbono en el CO_2 está en la forma más oxidada de la naturaleza (+4). El carbono del primer intermediario estable, el 3-fosfoglicerato, está más reducido (+3) y se reduce aún más en el gliceraldehído-3-fosfato (+1). En conjunto, las reacciones tempranas del ciclo de Calvin completan la reducción del carbono atmosférico, facilitando su incorporación a compuestos orgánicos.

La carboxilación de la ribulosa bisfosfato está catalizada por el enzima rubisco

El CO_2 entra en el ciclo de Calvin al reaccionar con la ribulosa-1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato (Figura 8.3 y tabla 8.1), una reacción que está catalizada por la ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa, un enzima del cloroplasto, que se conoce como **rubisco** (véase el **tema web 8.2**). Como su propio nombre completo indica, el enzima tiene además una actividad oxigenasa en la que el O_2 compite con el CO_2 por el sustrato común, la ribulosa-1,5-bisfosfato (Lorimer 1983). Como analizaremos más adelante, esta propiedad limita la fijación neta de CO_2.

Como se muestra en la figura 8.4, el CO_2 se une al carbono 2 de la ribulosa-1,5-bisfosfato, generando un intermediario inestable unido al enzima, que se hidroliza para generar dos moléculas de un producto estable, el 3-fosfoglicerato (véase la tabla 8.1, reacción 1). Las dos moléculas de 3-fosfoglicerato marcadas como «superior» e «inferior» en la figura, se distinguen por el hecho de que la marcada como superior contiene el dióxido de carbono incorporado, designado como $^*CO_2$.

Dos propiedades de la reacción de la carboxilasa son especialmente importantes.

1. La variación negativa de energía libre (véase el capítulo 2 en la página web para un análisis detallado sobre la energía libre) asociada con la carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato es grande, así que la reacción en ese sentido está muy favorecida.
2. La afinidad de la rubisco por el CO_2 es suficientemente alta como para asegurar la rápida carboxilación incluso a las bajas concentraciones de CO_2 encontradas en las células fotosintéticas.

La rubisco es muy abundante, constituyendo hasta el 40% de las proteínas solubles totales en la mayoría de las hojas. Se calcula que la concentración de sitios activos de la rubisco en el estroma del cloroplasto es de 4 mM, unas 500 veces mayor que la concentración de su sustrato, el CO_2 (véase el **tema web 8.3**).

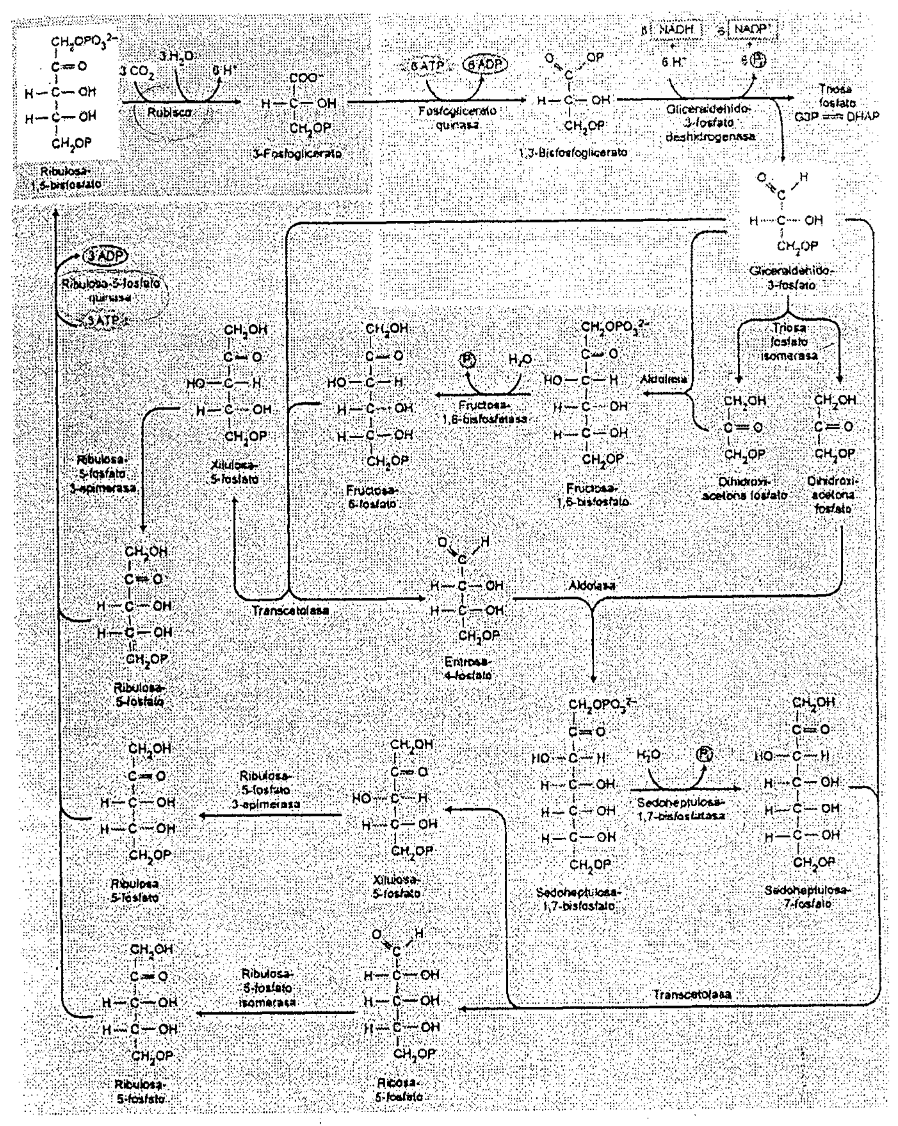


Figura 8.3 El ciclo de Calvin. La carboxilación de tres moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato da lugar a la síntesis neta de una molécula de gliceraldehído-3-fosfato y a la regeneración de las tres moléculas iniciales del sustrato. Este proceso empieza y termina con tres moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato, reflejando la naturaleza cíclica de la ruta.

Las triosas fosfato se forman en la etapa de reducción del ciclo de Calvin

A continuación, en el ciclo de Calvin (Figura 8.3 y tabla 8.1), el 3-fosfoglicerato formado en la etapa de carboxilación sufre dos modificaciones:

1. Primero es fosforilado, vía una 3-fosfoglicerato quinasa, a 1,3-bisfosfoglicerato (Tabla 8.1, reacción 2), utilizando el ATP generado en las reacciones de la fase luminosa.

TABLA 8.1
Reacciones del ciclo de Calvin

Enzima	Reacción
1. Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa	6 Ribulosa-1,5-bisfosfato + 6 CO_2 + 6 H_2O → 12 (3-fosfoglicerato) + 12 H^+
2. 3-fosfoglicerato quinasa	12 (3-Fosfoglicerato) + 12 ATP → 12 (1,3-bisfosfoglicerato) + 12 ADP
3. NADP:gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	12(1,3-Bisfosfoglicerato) + 12 NADPH + 12 H^+ → 12 gliceraldehído-3-fosfato + 12 $NADP^+$ + 12 P_i
4. Triosa fosfato isomerasa	5 Gliceraldehído-3-fosfato → 5 dihidroxiacetona-3-fosfato
5. Aldolasa	3 Gliceraldehído-3-fosfato + 3 dihidroxiacetona-3-fosfato → 3 fructosa-1,6-bisfosfato
6. Fructosa-1,6-bisfosfatasa	3 Fructosa-1,6-bisfosfato + 3 H_2O → 3 fructosa-6-fosfato + 3 P_i
7. Transcetolasa	2 Fructosa-6-fosfato + 2 gliceraldehído-3-fosfato → 2 eritrosa-4-fosfato + 2 xilulosa-5-fosfato
8. Aldolasa	2 Eritrosa-4-fosfato + 2 dihidroxiacetona-3-fosfato → 2 sedoheptulosa-1,7-bisfosfato
9. Sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa	2 Sedoheptulosa-1,7-bisfosfato + 2 H_2O → 2 sedoheptulosa-7-fosfato + 2 P_i
10. Transcetolasa	2 Sedoheptulosa-7-fosfato + 2 gliceraldehído-3-fosfato → 2 ribosa-5-fosfato + 2 xilulosa-5-fosfato
11. Ribulosa-5-fosfato epimerasa	4 Xilulosa-5-fosfato → 4 ribulosa-5-fosfato
12. Ribosa-5-fosfato isomerasa	2 Ribosa-5-fosfato → 2 ribulosa-5-fosfato
13. Ribulosa-5-fosfato quinasa	6 Ribulosa-5-fosfato + 6 ATP → 6 ribulosa-1,5-bisfosfato + 6 ADP + 6 H^+
Neto: 6 CO_2 + 11 H_2O + 12 NADPH + 18 ATP → Fructosa-6-fosfato + 12 $NADP^+$ + 6 H^+ + 18 ADP + 17 P_i	

Nota: P_i es fosfato inorgánico.

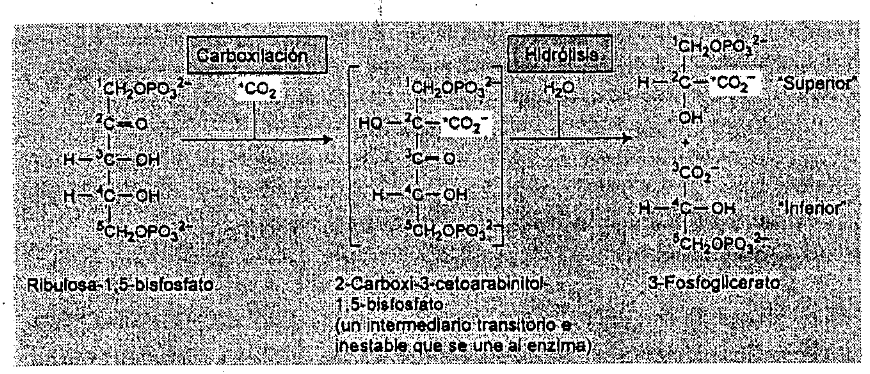


Figura 8.4 La carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato catalizada por la rubisco.

2. Entonces es reducido a gliceraldehído-3-fosfato, utilizando el NADPH generado en las reacciones de la fase luminosa (Tabla 8.1, reacción 3). Este paso está catalizado por la NADP:gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. (Obsérvese que el enzima es similar al de la glicólisis que se analiza en el capítulo 11), excepto que el coenzima es NADP en lugar de NAD. Durante el desarrollo del cloroplasto se sintetiza una forma del enzima, unido a NADP, que se utiliza preferentemente en las reacciones biosintéticas.

La acción del ciclo de Calvin requiere la regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato

La fijación continuada de CO_2 requiere que el aceptor del CO_2, la ribulosa-1,5-bisfosfato, sea constantemente regenerado. Para evitar el agotamiento de los intermediarios del ciclo de Calvin, se forman tres moléculas de ribulosa-1,5-bisfosfato (15 carbonos en total) mediante reacciones que reorganizan los carbonos de cinco moléculas de triosas fosfato (5 × 3 = 15 carbonos). Esta reorganización se realiza en las reacciones 4 a 12 de la tabla 8.1 (véase también la figura 8.3):

1. Una molécula de gliceraldehído-3-fosfato es convertida en dihidroxiacetona-3-fosfato en una reacción de isomerización realizada por la triosa fosfato isomerasa (reacción 4).
2. La dihidroxiacetona-3-fosfato entonces experimenta una condensación aldólica con una segunda molécula de gliceraldehído-3-fosfato, una reacción catalizada por una aldolasa, para dar fructosa-1,6-bisfosfato (reacción 5).
3. La fructosa-1,6-bisfosfato, que ocupa una posición clave en el ciclo, es hidrolizada a fructosa-6-fosfato (reacción 6), que a su vez es transformada por una transcetolasa.

4. Una unidad de dos carbonos (C-1 y C-2 de la fructosa-6-fosfato) es transferida a través de una transcetolasa a una tercera molécula de gliceraldehído-3-fosfato para dar eritrosa-4-fosfato (desde C-3 a C-6 de fructosa) y xilulosa-5-fosfato (del C-2 de la fructosa y del gliceraldehído-3-fosfato) (reacción 7).
5. La eritrosa-4-fosfato entonces se combina, vía aldolasa, con una cuarta molécula de triosa fosfato (dihidroxiacetona-3-fosfato) para dar un azúcar de siete carbonos, la sedoheptulosa-1,7-bisfosfato (reacción 8).
6. Este bisfosfato de siete carbonos es posteriormente hidrolizado por una fosfatasa específica para dar sedoheptulosa-7-fosfato (reacción 9).
7. La sedoheptulosa-7-fosfato cede una unidad de dos carbonos a la quinta y última molécula de gliceraldehído-3-fosfato, vía transcetolasa generando ribosa-5-fosfato (desde C-3 a C-7 de la sedoheptulosa) y xilulosa 5-fosfato (del C-2 de la sedoheptulosa y el gliceraldehído-3-fosfato) (reacción 10).
8. Las dos moléculas de xilulosa-5-fosfato son convertidas en dos moléculas de ribulosa-5-fosfato por una ribulosa-5-fosfatasa epimerasa (reacción 11a). La tercera molécula de ribulosa-5-fosfato se forma a partir de la ribosa-5-fosfato por la ribosa-5-fosfato isomerasa (reacción 11b).
9. Finalmente, la ribulosa-5-fosfato quinasa cataliza la fosforilación de la ribulosa-5-fosfato con ATP, regenerándose así las tres moléculas necesarias del aceptor inicial de CO_2, la ribulosa-1,5-bisfosfato (reacción 12).

El ciclo de Calvin regenera sus propios componentes bioquímicos

Las reacciones del ciclo de Calvin regeneran los intermediarios que son necesarios para mantener el funcionamiento del ciclo. Pero aún más importante, la tasa a la que actúa el ciclo de Calvin puede incrementarse al aumentar las concentraciones de sus intermediarios; es decir, el ciclo es **autocatalítico**. Como consecuencia, el ciclo de Calvin tiene una característica metabólica única y es que produce más sustrato del que consume, siempre que las triosas fosfato sean empleadas en otra vía:

$$5\ RuBP^{4-} + 5\ CO_2 + 9\ H_2O + 16\ ATP^{4-} + 10\ NADPH \rightarrow$$
$$6\ RuBP^{4-} + 14\ P_i + 6\ H^+ + 16\ ADP^{3-} + 10\ NADP^+$$

La importancia de esta propiedad autocatalítica ha sido demostrada en experimentos en los se han iluminado hojas en oscuridad o cloroplastos aislados. En estos experimentos, la fijación de CO_2 comienza sólo después de un tiempo, llamado *periodo de inducción*, y las tasas de fotosíntesis aumentan con el tiempo después de los primeros minutos tras haber sido iluminados. El aumento de la tasa de fotosíntesis durante el periodo de inducción es debido, en parte, a la activación de los enzimas

por la luz (analizada más adelante) y es, por otro lado, atribuible al aumento de la concentración de los intermediarios del ciclo de Calvin.

La estequiometría el ciclo de Calvin muestra que sólo una sexta parte de las triosas fosfato se utilizan para sintetizar sacarosa o almidón

La síntesis de carbohidratos (sacarosa, almidón) proporciona un sumidero que asegura un flujo adecuado de átomos de carbono a través del ciclo de Calvin en condiciones de incorporación continua de CO_2. Una característica importante del ciclo de Calvin es la estequiometría global. Al inicio de la iluminación, la mayor parte de las triosas fosfato vuelven al ciclo para mantener una concentración adecuada de metabolitos. Cuando la fotosíntesis alcanza el estado estacionario, sin embargo, cinco de cada seis triosas fosfato contribuye a la regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato y sólo una es exportada al citosol para la síntesis de sacarosa u otros metabolitos que son convertidos en almidón en el cloroplasto.

Se requiere un aporte de energía, proporcionado por ATP y NADPH, para mantener en funcionamiento el ciclo de fijación del CO_2. El balance final de la tabla 8.1 muestra que para sintetizar el equivalente de una molécula de hexosa, se fijan 6 moléculas de CO_2 a expensas de 18 moléculas de ATP y 12 de NADPH. En otras palabras, el ciclo de Calvin consume dos moléculas de NADPH y tres moléculas de ATP por cada molécula de CO_2 fijada a carbohidrato.

Podemos calcular la eficiencia termodinámica total de la fotosíntesis si conocemos la cantidad de energía de la luz, el requerimiento cuántico mínimo (moles de cuantos absorbidos por mol de CO_2 fijado; véase el capítulo 7) y la energía almacenada en un mol de carbohidratos (hexosas).

La luz del rojo de 680 nm contiene 175 kJ (42 kcal) por mol de fotones. El requerimiento cuántico mínimo calculado normalmente es de 8 fotones por molécula de CO_2 fijada, aunque experimentalmente el número que se obtiene es de 9 a 10 (véase el capítulo 7). Así pues, el mínimo de energía luminosa necesaria para reducir 6 moles de CO_2 a un mol de hexosa es aproximadamente de $6 \times 8 \times 175$ kJ = 8400 kJ (2016 kcal). No obstante, un mol de hexosa, como por ejemplo la fructosa, produce sólo 2804 kJ (673 Kcal) cuando es oxidada completamente.

Si comparamos los 8400 kJ con los 2804 kJ, podemos observar que la eficiencia termodinámica de la fotosíntesis es del 33%. Sin embargo, la mayor parte de la energía de la luz no empleada se pierde más en la generación de ATP y NADPH en las reacciones luminosas (véase el capítulo 7) que en el funcionamiento del ciclo de Calvin.

Podemos estimar la eficiencia del ciclo de Calvin calculando directamente de las variaciones de energía libre asociadas a la hidrólisis del ATP y la oxidación del NADPH, que son de 29 y 217 kJ (7 y 52 kcal) por mol, respectivamente. En la tabla 8.1, que

resume las reacciones del ciclo de Calvin, vimos que la síntesis de una molécula de fructosa-6-fosfato a partir de 6 moléculas de CO_2 utiliza 12 moléculas de NADPH y 18 moléculas de ATP. Por tanto, el ciclo de Calvin consume (12 × 217) + (18 × 29) = 3126 kJ (750 kcal) en forma de NADPH y ATP, representando una eficiencia termodinámica cercana al 90%.

Un análisis de estos cálculos muestra que la mayor parte de la energía necesaria para la conversión de CO_2 a carbohidratos viene del NADPH. Es decir, 2 moles de NADPH × 52 kcal mol^{-1} = 104 kcal, y 3 moles de ATP × 7 kcal mol^{-1} = 21 kcal. Así, el 83% (104 de 125 kcal) de la energía almacenada proviene del NADPH reducido.

El ciclo de Calvin no se produce en todas las células autótrofas. Algunas bacterias anaerobias utilizan otras rutas de crecimiento autótrofo:

- La ferredoxina media la síntesis de ácidos orgánicos derivados del acetil CoA y succinil CoA por el ciclo reductor del ácido carboxílico de las bacterias verdes sulfurosas.
- El ciclo productor de glioxilato (la ruta del hidroxipropionato de las bacterias verdes no sulfurosas)
- La ruta lineal (ruta del acetil CoA) acetogénica, de las bacterias metanogénicas

Así, aunque se han descrito otras rutas de fijación autotrófica de CO_2, el ciclo de Calvin es cuantitativamente la ruta más importante.

REGULACIÓN DEL CICLO DE CALVIN

La alta eficiencia energética del ciclo de Calvin indica que debe existir algún tipo de regulación que asegure que todos los intermediarios del ciclo estén presentes a concentraciones adecuadas y que el ciclo se detenga cuando no sea necesario (en oscuridad). En general, en la variación de la concentración o en la actividad de enzimas específicos modula las tasas catalíticas, ajustando el nivel de metabolitos del ciclo.

Los cambios en la expresión génica y en la biosíntesis de proteínas regulan la concentración de enzima. Las modificaciones «post-traduccionales» de las proteínas contribuyen a la regulación de la actividad enzimática. A nivel genético, la cantidad de cada enzima presente en el estroma del cloroplasto está regulada por los mecanismos que controlan la expresión de los genomas del núcleo y del cloroplasto (Maier y col. 1995; Purton 1995).

La regulación a corto plazo del ciclo de Calvin se consigue con una gran variedad de mecanismos que optimizan las concentraciones de los intermediarios. Estos mecanismos minimizan las reacciones que actúan en direcciones opuestas, hecho que consumiría recursos (Wolosiuk y col. 1993). Dos mecanismos generales pueden cambiar las propiedades cinéticas de los enzimas:

1. La transformación de enlaces covalentes, como la reducción de disulfuros y la carbamilación de grupos amino, que generan un enzima modificado químicamente.
2. La modificación de interacciones no covalentes, como la unión de metabolitos o cambios en la composición del medio celular (por ejemplo, el pH). Además, la unión de enzimas a las membranas de los tilacoides aumenta la eficiencia del ciclo de Calvin, alcanzando un mayor nivel de organización que favorece la canalización y protección de los sustratos.

La activación de enzimas dependientes de la luz regula el ciclo de Calvin

Cinco enzimas que actúan en el ciclo de Calvin están regulados por la luz:

1. Rubisco
2. NADP:gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
3. Fructosa-1,6-bisfosfatasa
4. Sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa
5. Ribulosa-5-fosfato quinasa

Los cuatro últimos enzimas contienen uno o más puentes disulfuro (-S-S-). La luz controla la actividad de estos enzimas a través del **sistema ferredoxina-tiorredoxina**, un mecanismo basado en la oxidación-reducción de un grupo tiol covalente, identificado por Bob Buchanan y sus colaboradores (Buchanan 1980; Wolosiuk y col. 1993; Besse y Buchanan 1997; Schürmann y Jacquot 2000). En oscuridad, estos residuos se encuentran en la forma oxidada (-S-S-), siendo los enzimas inactivos o subactivos. En presencia de luz, los grupos -S-S- son reducidos al estado sulfhidrilo (-SH HS-). Este cambio redox conduce a la activación del enzima (Figura 8.5). La resolución de la estructura cristalina de cada miembro del sistema ferredoxina-tiorredoxina y los enzimas diana fructosa-1,6-bisfosfatasa y NADP:malato deshidrogenasa (Dai y col. 2001) han proporcionado una valiosa información sobre el mecanismo implicado.

Este sulfhidrilo (también llamado ditiol), señal de regulación de la proteína tiorredoxina, es transmitido a enzimas específicos, activándolos (véase el **tema web 8.4**). En algunos casos, como la fructosa-1,6-bisfosfatasa, la activación por tiorredoxina se ve incrementada por la unión de un efector (por ejemplo, el sustrato fructosa-1,6-bisfosfato).

La inactivación de los enzimas diana en oscuridad parece producirse por la ruta inversa de reducción. Es decir, el oxígeno hace pasar a la tiorredoxina y al enzima

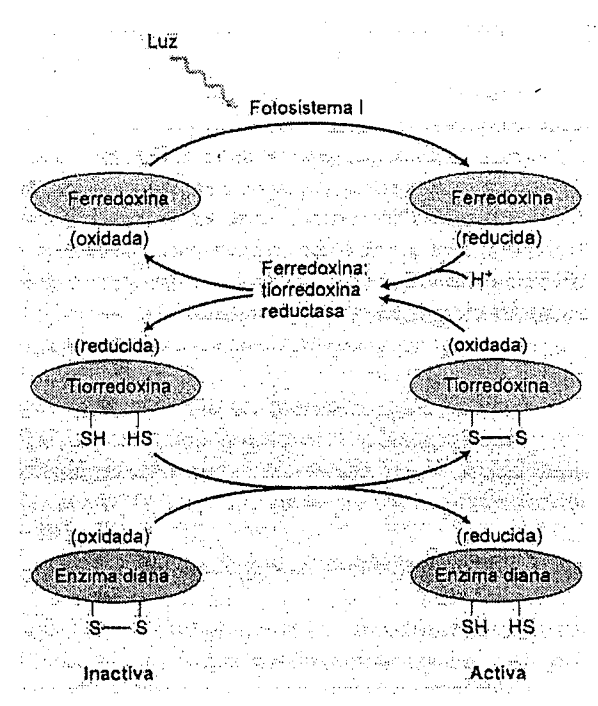


Figura 8.5 El sistema ferredoxina-tiorredoxina reduce enzimas específicos en presencia de luz. Por reducción, los enzimas de biosíntesis pasan de un estado inactivo a uno activado. El proceso de activación es iniciado por la luz, por reducción de una ferredoxina por el fotosistema I (véase el capítulo 7). La ferredoxina reducida y dos protones son empleados para reducir un grupo disulfuro catalíticamente activo (-S-S-) del enzima ferrosulfurado ferredoxina:tiorredoxina reductasa, que reduce a su vez un puente disulfuro (-S-S-) específico de una pequeña proteína reguladora, la tiorredoxina (véase el tema web 8.4 para más detalles). Entonces, la forma reducida (-SH HS-) de la tiorredoxina reduce un puente disulfuro crítico de un enzima diana (convierte -S-S- en -SH HS-) y provoca su activación. Por tanto, la señal de luz es convertida en señal sulfhidrilo, o -SH, a través de una ferredoxina y del enzima ferredoxina:tiorredoxina reductasa.

diana del estado reducido (-SH HS-) al estado oxidado (-S-S-), provocando la inactivación del enzima (véase la figura 8.5 y el **tema web 8.4**). Los cuatro últimos enzimas señalados aquí están regulados directamente por la tiorredoxina; el primero, la rubisco, está regulado indirectamente por un enzima accesorio a la tiorredoxina, la rubisco activasa (véase la sección siguiente).

La actividad rubisco aumenta por la luz

La actividad de la rubisco está también regulada por la luz, aunque el enzima por sí mismo no responde a la tiorredoxina. George Lorimer y sus colaboradores

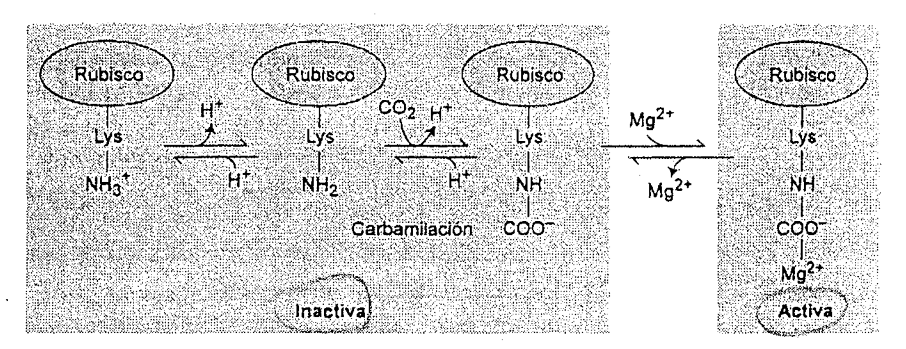


Figura 8.6 Una de las formas en las que la rubisco se activa implica la formación de un complejo carbamato-Mg^{2+} en el grupo ε-amino de una lisina en el sitio activo del enzima, liberando dos protones. La activación es estimulada por un aumento de la concentración de Mg^{2+} y pH mayores (baja concentración de H^+) como consecuencia de la iluminación. El CO_2 implicado en la reacción del carbamato-Mg^{2+} no es el mismo que el CO_2 implicado en la carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato.

encontraron que la rubisco se activa cuando el CO_2 activador (una molécula diferente al sustrato fijado) reacciona lentamente con un grupo ε-NH_2 no cargado de la lisina en el sitio activo del enzima. El carbamato resultante (un nuevo sitio aniónico) une rápidamente Mg^{2+} para formar el complejo activado (Figura 8.6).

Durante la formación del complejo ternario rubisco-CO_2-Mg^{2+}, se liberan dos protones de forma que la activación es promovida por un aumento tanto del pH como de la concentración de Mg^{2+}. Por tanto, los cambios de pH y Mg^{2+} en el estroma dependientes de la luz (véase la sección siguiente) parecen facilitar la activación de la rubisco por la luz.

En el estado activo, la rubisco une otra molécula de CO_2 que reacciona con la forma 2,3-enediol de la ribulosa-1,5-bisfosfato (P-O-CH_2-COH=COH-CHPH-CH_2O-P), formando 2-carboxi-3-cetoarabinitol-1,5-bisfosfato. La extremada inestabilidad de este último intermediario conduce a la ruptura del enlace que une los carbonos 2 y 3 de la ribulosa-1,5-bisfosfato y, como consecuencia, la rubisco libera dos moléculas de 3-fosfoglicerato.

La unión de azúcares fosfato, como la ribulosa-1,5-bisfosfato, a la rubisco impide la carbamilación. Los azúcares fosfato pueden ser eliminados por la rubisco activasa, en una reacción que requiere ATP. El papel principal de la rubisco activasa es acelerar la liberación de los azúcares fosfato unidos, preparando a la rubisco para la carbamilación (Salvucci y Ogren 1996, véase también el **tema web 8.5**).

La rubisco también está regulada por un azúcar fosfato natural, el carboxiarabinitol-1-fosfato, similar al intermediario transitorio de seis carbonos de la reacción de carboxilación. Este inhibidor está presente en las hojas de muchas especies en concentraciones muy bajas y en altas concentraciones en las hojas de leguminosas como

la soja y la judía. El carboxiarabinitol-1-fosfato se une a la rubisco por la noche y es eliminado por la acción de la rubisco activasa por la mañana, cuando aumenta el flujo fotónico.

Trabajos recientes han mostrado que en algunas plantas, la rubisco activasa está regulada por el sistema ferredoxina-tiorredoxina (Zhang y Portis 1999). Además de conectar la tiorredoxina con las cinco enzimas reguladoras del ciclo de Calvin, este descubrimiento proporciona un nuevo mecanismo para relacionar la luz y la regulación de la actividad enzimática.

Los movimientos iónicos dependientes de la luz regulan los enzimas del ciclo de Calvin

La luz induce cambios iónicos reversibles en el estroma que modulan la actividad de la rubisco y otros enzimas cloroplásticos. Bajo iluminación, los protones son bombeados desde el estroma al lumen de los tilacoides. El flujo de protones está acoplado a la incorporación de Mg^{2+} al estroma. Este flujo iónico disminuye la concentración de H^+ del estroma (pH 7 $\rightarrow$ 8) y aumenta la concentración de Mg^{2+}. Estos cambios en la composición iónica del estroma se invierten en oscuridad.

Varios enzimas del ciclo de Calvin (rubisco, fructosa 1,6-bisfosfatasa, sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa y ribulosa-5-fosfato quinasa) son más activos a pH 8 que a pH 7, y necesitan Mg^{2+} como cofactor para la catálisis. Por tanto, estos movimientos iónicos dependientes de la luz aumentan la actividad de enzimas clave del ciclo de Calvin (Heldt 1979).

El transporte dependiente de la luz a través de la membrana regula el ciclo de Calvin

La tasa a la que el carbono es exportado desde el cloroplasto juega un papel importante en la regulación del ciclo de Calvin. El carbono es exportado como triosas fosfato e intercambiado con ortofosfato a través de un transportador de fosfato de la membrana interna del cloroplasto (Flügge y Heldt 1991). Para asegurar un funcionamiento continuado del ciclo de Calvin, al menos cinco sextos de las triosas fosfato se deben reciclar (véase la tabla 8.1 y figura 8.3). Así, como mucho una sexta parte puede ser exportadas para la síntesis de sacarosa en el citosol o ser desviada para la síntesis de almidón en el cloroplasto. La regulación de este aspecto del metabolismo fotosintético del carbono se analizará con más detalle cuando se estudie en este capítulo la síntesis de sacarosa y almidón.

EL CICLO FOTOSINTÉTICO C_2 DE OXIDACIÓN DEL CARBONO

Una propiedad importante de la rubisco es su capacidad para catalizar no sólo la carboxilación de la RuBP, sino también su oxigenación específica. La oxigenación es la primera reacción de un proceso conocido como **fotorrespiración**. Debido a que la fotosíntesis y la fotorrespiración actúan en sentidos opuestas, los resultados de la fotorrespiración provocan la pérdida de CO_2 en células que simultáneamente están fijando CO_2 por el ciclo de Calvin (Ogren 1984; Leegood y col. 1995).

En esta sección describiremos el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono y las reacciones que permiten la recuperación parcial del carbono perdido por oxidación.

La fijación fotosintética del CO_2 y la oxigenación fotorrespiratoria son reacciones que compiten entre sí

La incorporación de una molécula de O_2 en el isómero 2,3-enediol de la ribulosa-1,5-bisfosfato genera un intermediario inestable que rápidamente genera 2-fosfoglicolato y 3-fosfoglicerato (Figura 8.7 y tabla 8.2, reacción 1). La capacidad de catalizar la oxigenación de la ribulosa 1,5-bisfosfato es una propiedad de todas las rubiscos, independientemente de su origen taxonómico. Incluso las rubiscos de bacterias anaeróbicas autótrofas catalizan la reacción de oxigenación, si son expuestas al oxígeno.

Como sustratos alternativos de la rubisco, el CO_2 y el O_2 compiten para reaccionar con la ribulosa-1,5-bisfosfato, ya que la carboxilación y la oxigenación se producen en el mismo sitio activo del enzima. A concentraciones iguales de CO_2 y de O_2 en un tubo de ensayo, la rubisco de las angiospermas fija el CO_2 unas 80 veces más rápida de lo que oxigena. Sin embargo, una solución acuosa en equilibrio con el aire a 25°C tiene una relación CO_2:O_2 de 0,0416 (véanse los **temas web 8.2** y **8.3**). A estas concentraciones, la proporción de carboxilación respecto a la oxigenación en aire es de tres a uno.

El ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono actúa como un sistema de limpieza para recuperar el carbono fijado perdido durante la fotorrespiración por la reacción de oxigenación de la rubisco (véase el **tema web 8.6**). El 2-fosfoglicolato formado en el cloroplasto por oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato es rápidamente hidrolizado a glicolato por una fosfatasa específica del cloroplasto (Figura 8.7 y tabla 8.2, reacción 2). El posterior metabolismo del glicolato implica la participación de otros dos orgánulos, los peroxisomas y las mitocondrias (véase el capítulo 1) (Tolbert 1981).

El glicolato abandona el cloroplasto a través de un transportador proteico específico en la membrana, y difunde al peroxisoma. Allí es oxidado a glioxilato y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la flavina mononucleótido oxidasa: glicolato oxidasa

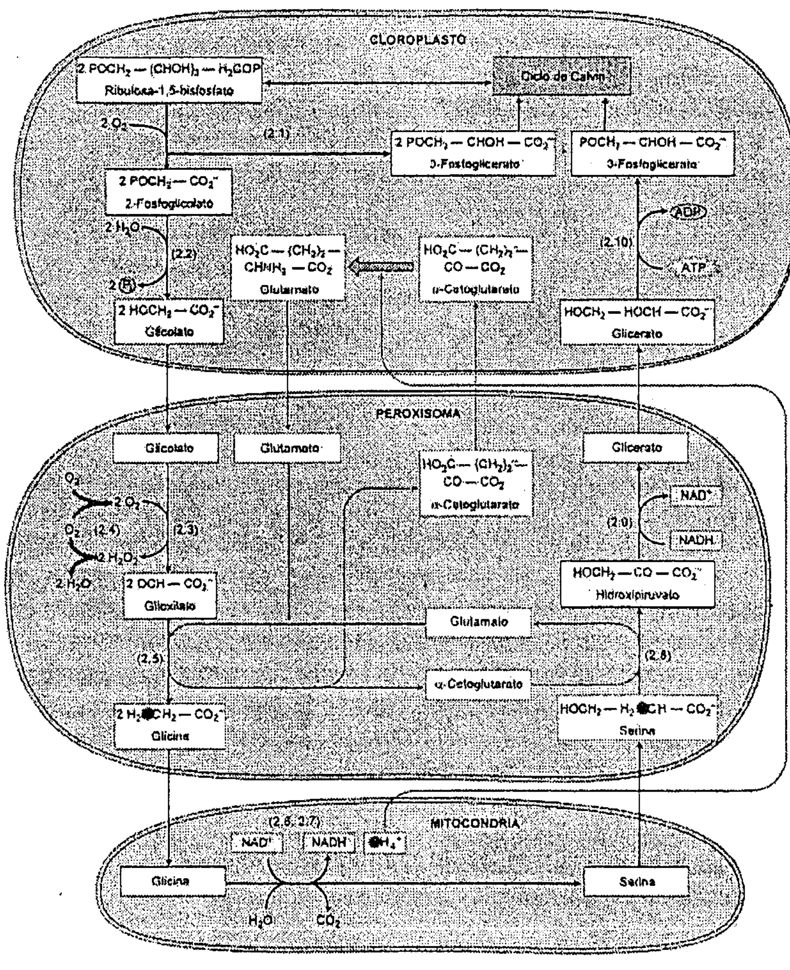


Figura 8.7 Las principales reacciones del ciclo fotorrespiratorio. El funcionamiento del ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono implica la interacción cooperativa de tres orgánulos: cloroplastos, mitocondrias y peroxisomas. Dos moléculas de glicolato (cuatro carbonos) son transportadas desde el cloroplasto al peroxisoma y convertidas en glicina que, a su vez, es exportada a la mitocondria y transformada en serina (tres carbonos) con la consiguiente liberación de dióxido de carbono (un carbono). La serina es transportada al peroxisoma donde es transformada en glicerato. Este último pasa al cloroplasto donde es fosforilado a 3-fosfoglicerato e incorporado al ciclo de Calvin. El nitrógeno inorgánico (amonio) liberado por la mitocondria es capturado por el cloroplasto para su incorporación en aminoácidos, empleando esqueletos apropiados (α-cetoglutarato). La flecha gruesa en rojo señala la asimilación del amonio a glutamato catalizada por la glutamina sintetasa. Además, la incorporación de oxígeno por el peroxisoma implica un ciclo de oxígeno acoplado a las reacciones de oxidativas. Los flujos de carbono, nitrógeno y oxígeno están indicados en negro, rojo y azul, respectivamente. Para una descripción detallada de cada una de las reacciones numeradas, véase la tabla 8.2. (Véase el esquema en color en el CD).

TABLA 8.2
Reacciones del ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono

Enzima	Reacción
1. Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (cloropolasto)	2 Ribulosa-1,5-bisfosfato + 2 O_2 → 2 fosfoglicolato + 2 3-fosfoglicerato + 4 H^+
2. Fosfoglicolato fosfatasa (cloroplasto)	2 Fosfoglicolato + 2 H_2O → 2 glicolato + 2 P_i
3. Glicolato oxidasa (peroxisoma)	2 Glicolato + 2 O_2 → 2 glioxilato + 2 H_2O_2
4. Catalasa (peroxisoma)	2 H_2O_2 → 2 H_2O + O_2
5. Glioxilato:glutamato aminotransferasa (peroxisoma)	2 Glioxilato + 2 glutamato → 2 glicina + 2 α-cetoglutarato
6. Glicina descarboxilasa (mitocondria)	Glicina + NAD^+ + H^+ + H_4-folato → NADH + CO_2 + NH_4^+ + metilen-H_4-folato
7. Serina hidroximetiltransferasa (mitocondria)	Metileno-H_4-folato + H_2O + glicina → serina + H_4-folato
8. Serina aminotransferasa (peroxisoma)	Serina + α-cetoglutarato → hidroxipiruvato + glutamato
9. Hidroxipiruvato reductasa (peroxisoma)	Hidroxipiruvato + NADH + H^+ → glicerato + NAD^+
10. Glicerato quinasa (cloroplasto)	Glicerato + ATP → 3-fosfoglicerato + ADP + H^+

Nota: En la liberación de glicolato del cloroplasto (reacciones 2 → 3), la interacción de este orgánulo con el peroxisoma y la mitocondria dirige la siguiente reacción global:

2 glicolato + glutamato + O_2 → glicerato + α-cetoglutarato + NH_4^+ + CO_2 + H_2O

El 3-fosfoglicerato formado en el cloroplasto (reacción 10) es convertido en ribulosa-1,5-bisfosfato por las reacciones reductivas y regenerativas del ciclo de Calvin. El amonio y el α-cetopglutarato son convertidos en glutamato en el cloroplasto por la glutamato sintasa unida a ferredoxina (GOGAT).
P_i es fosfato inorgánico.

(Figura 8.7 y tabla 8.2, reacción 3). La gran cantidad de peróxido de hidrógeno liberado en el peroxisoma es destruído por acción de la catalasa (Tabla 8.2, reacción 4), mientras el glioxilato sufre una transaminación (reacción 5). El dador del grupo amino en esta transaminación es, probablemente, el glutamato, y el producto es el aminoácido glicina.

La glicina abandona el peroxisoma y entra en la mitocondria (véase la figura 8.7). Allí, el complejo multienzimático glicina descarboxilasa convierte dos moléculas de glicina y una de NAD^+ en una molécula de serina, NADH, NH_4^+ y CO_2 (Tabla 8.2, reacciones 6 y 7). Este complejo multienzimático, presente en grandes cantidades en la matriz de las mitocondrias vegetales, consta de cuatro proteínas, llamadas proteína H (un polipéptido que contiene lipoamida), proteína P (una proteína homodimérica de 200 kDa que contiene un piridoxal fosfato), proteína T (proteína dependiente de folato) y proteína L (una proteína que contiene flavina adenina nucleótido).

El amonio formado en la oxidación de la glicina difunde rápidamente desde la matriz de la mitocondria a los cloroplastos, donde la glutamina sintetasa la combina con esqueletos carbonados para formar aminoácidos. La serina recién formada abandona la mitocondria y entra en el peroxisoma, donde es convertida, primero por transaminación a hidroxipiruvato (Tabla 8.2, reacción 8) y, a continuación, por una reducción dependiente de NADH, a glicerato (reacción 9).

Una lanzadera malato-oxalacetato transfiere NADH del citoplasma al peroxisoma, manteniendo así una concentración adecuada de NADH para esta reacción. Finalmente, el glicerato vuelve al cloroplasto, donde es fosforilado para formar el 3-fosfoglicerato (Tabla 8.2, reacción 10).

En la fotorrespiración, varios compuestos son recirculados de forma coordinada a través de dos ciclos. En uno de los dos ciclos el carbono sale del cloroplasto como dos moléculas de glicolato y vuelve como una molécula de glicerato. En el otro ciclo, el nitrógeno sale del cloroplasto como una molécula de glutamato y vuelve como una molécula de amonio (junto a una molécula de α-cetoglutarato) (véase la figura 8.7).

De esta forma, globalmente dos moléculas de fosfoglicolato (cuatro átomos de carbono), perdidos en el ciclo de Calvin por la oxigenación de la Rubí, son convertidos en una molécula de 3-fosfoglicerato (tres átomos de carbono) y una de CO_2. En otras palabras, el 75% del carbono perdido por oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato es recuperado por el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del CO_2 y devuelto al ciclo de Calvin (Lorimer 1981).

Por otro lado, la cantidad total de nitrógeno orgánico no varía porque la formación de nitrógeno inorgánico (NH_4^+) en la mitocondria es compensada por la síntesis de glutamina en el cloroplasto. Asimismo, el consumo de NADH en el peroxisoma (por la hidroxipiruvato reductasa) se compensa con la reducción de NAD^+ en la mitocondria (por la glicina descarboxilasa).

La competencia entre carboxilación y oxigenación disminuye la eficiencia de la fotosíntesis

Debido a que la fotorrespiración se produce simultáneamente a la fotosíntesis, es difícil cuantificar la tasa de fotorrespiración en células intactas. Se requieren dos moléculas de 2-fosfoglicolato (cuatro carbonos) para formar una molécula de 3-fosfoglicerato y liberar una molécula de CO_2; por eso, teóricamente, una cuarta parte de los átomos de carbono que entran en el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono se libera como CO_2.

Las medidas de CO_2 liberado por hojas de girasol apoyan estos cálculos. Este resultado indica que la tasa real de fotosíntesis es de aproximadamente 120-125% de la tasa medida. La proporción entre carboxilación y oxigenación en aire a 25°C es de

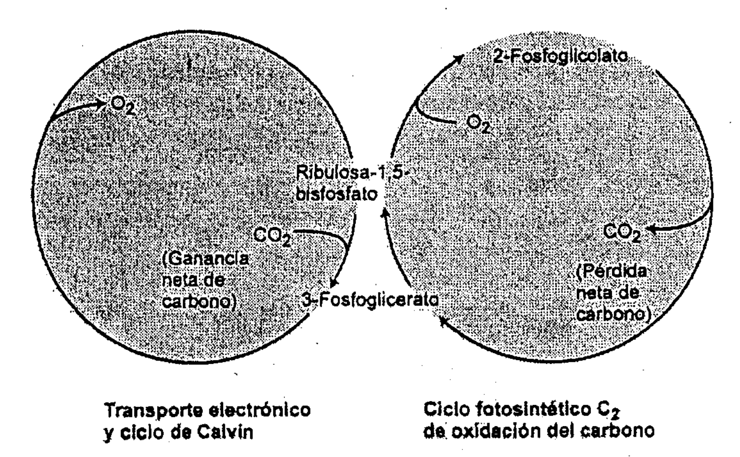


Figura 8.8 El flujo de carbono en la hoja está determinado por un equilibrio entre dos ciclos opuestos. Mientras el ciclo Calvin es capaz de actuar independiente en presencia de los sustratos adecuados generados por el transporte electrónico fotosintético, el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono requiere la acción continua del ciclo de Calvin para regenerar su material de partida, la ribulosa-1,5-bisfosfato.

2,5 a 3. Otros cálculos indican que la fotorrespiración disminuye la eficiencia de la fijación del carbono fotosintético de un 90% a aproximadamente un 50%.

Esta disminución de la eficiencia se puede cuantificar como un aumento del requerimiento cuántico para la fijación de CO_2 en condiciones de fotorrespiración (aire con alta concentración de O_2 y baja de CO_2) en oposición a las condiciones de no fotorrespiración (aire con baja concentración de O_2 y alta de CO_2).

La carboxilación y la oxigenación están íntimamente asociadas en hojas intactas

El metabolismo fotosintético del carbono en hojas intactas refleja un equilibrio integrado de dos ciclos opuestos y asociados (Figura 8.8). El ciclo de Calvin puede actuar independientemente, pero el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono depende del ciclo de Calvin como fuente de ribulosa-1,5-bisfosfato. El equilibrio entre los dos ciclos viene determinado por tres factores: las propiedades cinéticas de la rubisco, las concentraciones de los sustratos CO_2 y O_2 y la temperatura.

Al aumentar la temperatura, la concentración de CO_2 en una solución en equilibrio con el aire disminuye más que la de O_2 (véase el **tema web 8.3**). Por tanto, la relación de las concentraciones de CO_2 y O_2 disminuye al aumentar la temperatura. Como consecuencia de esta propiedad, al aumentar la temperatura, la fotorrespiración (oxigenación) aumenta respecto a la fotosíntesis (carboxilación). Este efecto se

ve incrementado por las propiedades cinéticas de la rubisco, que también provocan un aumento relativo de la oxigenación a altas temperaturas (Ku y Edwards 1978). En conjunto, el aumento de la temperatura desplaza el equilibrio del ciclo de Calvin hacia el ciclo fotosintético de oxidación del carbono (véase el capítulo 9).

Se desconoce la función biológica de la fotorrespiración

Aunque el ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono recupera un 75% del carbono inicialmente perdido del ciclo de Calvin como 2-fosfoglicolato, ¿por qué se forma el 2-fosfoglicolato? Una posible explicación es que la formación del 2-fosfoglicolato es consecuencia de la química de la reacción de carboxilación, que implica un intermediario que reacciona con CO_2 y O_2.

Esta reacción habría tenido pocas consecuencias en etapas iniciales de la evolución cuando la proporción de CO_2 y O_2 en el aire era más alta de lo que es hoy en día. Sin embargo, las bajas proporciones de CO_2:O_2 que existen en los tiempos modernos conducen a la fotorrespiración sin otra función que recuperar parte del carbono presente en el 2-fosfoglicolato.

Otra posible explicación es que la fotorrespiración sea importante en condiciones de alta intensidad de luz y baja concentración de CO_2 intercelular (por ejemplo, cuando se cierran los estomas por estrés hídrico), para disipar el exceso de ATP y poder reductor procedentes de las reacciones luminosas y prevenir así el daño del aparato fotosintético. Los mutantes de *Arabidopsis* incapaces de fotorrespirar crecen normalmente al 2% de CO_2, pero mueren rápidamente si se transfieren a aire normal. Los trabajos realizados con plantas transgénicas han aportado evidencias de que la fotorrespiración protege a las plantas C_3 de la fotooxidación y la fotoinhibición (Kozaki y Takeba 1996). Serán necesarios más estudios para ampliar los conocimientos actuales sobre la función de la fotorrespiración.

MECANISMOS DE CONCENTRACION DEL CO_2 I: BOMBAS DE ALGAS Y CIANOBACTERIAS

Muchas plantas no fotorrespiran o lo hacen de forma limitada. Estas plantas tienen rubiscos normales, la ausencia de fotorrespiración es consecuencia de mecanismos que concentran el CO_2 en el entorno de la rubisco y por ello suprimen la reacción de oxigenación.

En esta sección y en las dos siguientes analizaremos tres mecanismos de concentración del CO_2 en el sitio de carboxilación:

1. La fijación fotosintética C_4 del carbono(C_4)
2. El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM)
3. Las bombas de CO_2 en la membrana plasmática

Los dos primeros mecanismos de concentración del CO_2 se han encontrado en algunas angiospermas e incluyen «adiciones» al ciclo de Calvin. Las plantas con metabolismo C_4 se encuentran a menudo en climas cálidos; las plantas CAM son típicas de ambientes desérticos. Examinaremos cada uno de estos dos mecanismos después de considerar el tercer mecanismo: una bomba de CO_2 encontrada en plantas acuáticas que ha sido muy estudiada en cianobacterias y algas unicelulares.

Cuando se cultivan células de algas y cianobacterias en un aire enriquecido con un 5% de CO_2 y se transfieren a un medio con baja concentración de CO_2, presentan los síntomas típicos de la fotorrespiración (inhibición por O_2 de la fotosíntesis a bajas concentraciones de CO_2). No obstante, si las células se cultivan en un aire con un 0,03% de CO_2, rápidamente desarrollan la capacidad de concentrar internamente el carbono inorgánico (CO_2 y HCO_3^-). En estas condiciones de bajas concentraciones de CO_2, las células no fotorrespiran más.

A las concentraciones de CO_2 que se encuentran en los ambientes acuáticos, la rubisco actúa muy por debajo de su máxima actividad específica. Los organismos marinos y de agua dulce superan esta desventaja acumulando carbono inorgánico mediante bombas de CO_2 y HCO_3^- en la membrana plasmática. El ATP derivado de las reacciones luminosas de la fotosíntesis proporciona la energía necesaria para la captación activa de CO_2 y HCO_3^-. El carbono inorgánico total en el interior de algunas cianobacterias puede alcanzar concentraciones de 50 mM (Ogawa y Kaplan 1987). Estudios recientes indican que un único gen codifica un factor de transcripción que puede regular la expresión de los genes que codifican los componentes de los mecanismos de concentración de CO_2 en algas (Xiang y col. 2001).

Las proteínas que funcionan como bombas de CO_2 y HCO_3^- no están presentes en las células que crecen a concentraciones altas de CO_2, pero se inducen cuando son expuestas a bajas concentraciones de CO_2. El HCO_3^- acumulado es convertido en CO_2 por el enzima anhidrasa carbónica y el CO_2 entra en el ciclo de Calvin.

La consecuencia metabólica de este enriquecimiento de CO_2 es la supresión de la oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato y, por tanto, de la fotorrespiración. El coste energético de esta adaptación es el ATP adicional necesario para concentrar el CO_2.

MECANISMOS DE CONCENTRACIÓN DEL CO_2 II: EL CICLO C_4 DEL CARBONO

Existen diferencias en la anatomía de las hojas entre plantas que tienen un ciclo C_4 del carbono (llamadas *plantas C_4*) y aquellas que realizan la fotosíntesis única-

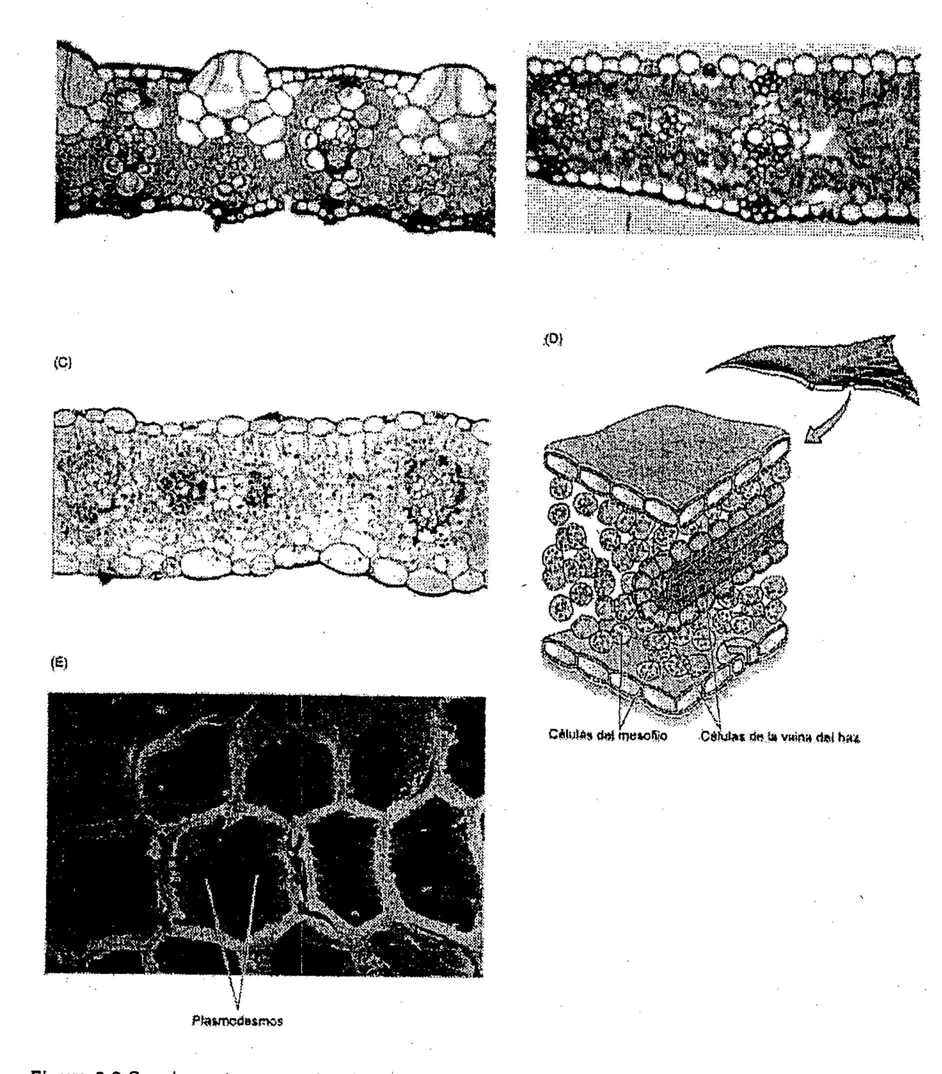


Figura 8.9 Secciones transversales de hojas mostrando las diferencias anatómicas entre plantas C_3 y C_4. (A) Una monocotiledónea C_4: *Saccharum officinarum* (caña de azúcar) (135×). (B) Una monocotiledónea C_3, *Poa sp.* (una herbácea) (240×). (C) Una dicotiledónea C_4, *Flaveria australasica* (Asteraceae) (740×). En las hojas C_4, las células de la vaina del haz son grandes (A y C) y ninguna célula del mesofilo está a más de dos o tres células de distancia de la célula más cercana de la vaina del haz. Estas características anatómicas no se presentan en las hojas C_3 (B). (D) Modelo tridimensional de una hoja C_4. (E) Micrografía electrónica de barrido de una hoja C_4 de *Triodia irritans* (1450×), mostrando los plasmodesmos en las paredes celulares de la vaina del haz, a través de los cuales se cree que se produce el transporte de metabolitos del ciclo C_4. (A y B de ©David Webb; C, cortesía de Athena McKown; D según Lüttge y Higinbotham; E de Craig y Goodchild 1977).

mente a través del ciclo fotosintético C_3 de Calvin (llamadas *plantas C_3*). Una sección transversal de una hoja típica de una planta C_3 muestra un tipo mayoritario de células con cloroplastos, el **mesofilo**. En cambio, en las hojas típicas de una planta C_4 hay dos clases de células con cloroplastos, las células del mesofilo y las células de la **vaina del haz** (o *kranz*, del alemán «corona») (Figura 8.9).

Existe una notable variación anatómica en el ordenamiento de las células de la vaina respecto al mesofilo y al tejido vascular. No obstante, la acción del ciclo C_4 requiere el esfuerzo cooperativo de ambos tipos de células. Ninguna célula del mesofilo de una planta C_4 está a más de dos o tres células de distancia de la célula de la vaina más cercana (Figura 8.9A). Además, una extensa red de plasmodesmos (véase la figura 1.27) conecta el mesofilo con las células de la vaina, proporcionando una ruta para el flujo de metabolitos entre los dos tipos de células.

El malato y el aspartato son productos de carboxilación del ciclo C_4

El descubrimiento del ciclo de los ácidos C_4 se realizó con estudios de marcaje con $^{14}CO_2$ realizados en caña de azúcar por H. P. Lortschack y sus colaboradores, y en maíz por Y. Karpilov y sus colaboradores. Cuando las hojas de estas plantas se expusieron unos segundos a $^{14}CO_2$ en presencia de luz, el 70-80% del marcaje se encontró en los ácidos C_4 malato y aspartato; patrón muy diferente del observado en hojas que sólo fotosintetizan a través del ciclo de Calvin.

A partir de estas observaciones iniciales, M. D. Hatch y C. R. Slack dilucidaron lo que hoy se conoce como el ciclo fotosintético C_4 del carbono (Figura 8.10). Empleando hojas de caña de azúcar establecieron que los ácidos C_4 malato y aspartato eran los primeros productos estables detectables de la fotosíntesis en hojas de las plantas C_4, y que el átomo de carbono 4 del malato se convierte en el átomo de carbono 1 del 3-fosfoglicerato (Hatch y Slack 1966). La primera carboxilación en estas hojas no está catalizada por la rubisco, sino por la PEP (fosfoenolpiruvato) carboxilasa (Chollet y col. 1996).

El mecanismo por el que el carbono se transfiere del átomo de carbono 4 del malato al átomo de carbono 1 del 3-fosfoglicerato se determinó al demostrar la implicación de las células de la vaina del haz y las del mesofilo. Los enzimas involucrados se producían en uno de los dos tipos de células: la PEP carboxilasa y piruvatoortofosfato diquinasa están restringidas a las células del mesofilo, mientras que las descarboxilasas y todos los enzimas del ciclo de Calvin están confinados en las células de la vaina. Con toda esta información, Hatch y Slack pudieron formular el modelo básico del ciclo (Figura 8.11 y tabla 8.3).

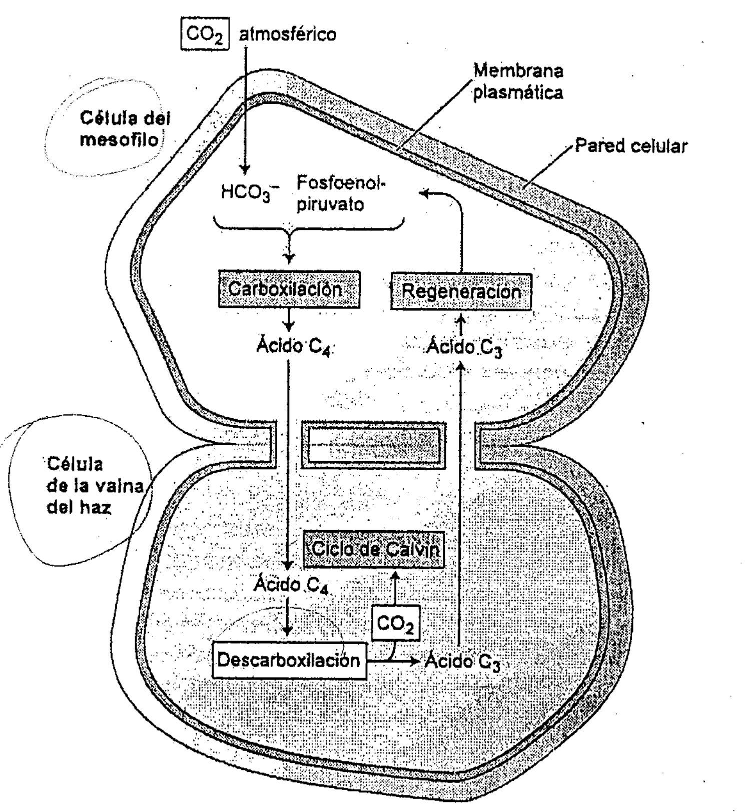


Figura 8.10 El ciclo fotosintético C_4 del carbono implica cuatro etapas y dos tipos de células diferentes: (1) Fijación del CO_2 en un ácido de cuatro carbonos en las células del mesofilo; (2) Transporte del ácido de cuatro carbonos desde las células del mesofilo a las células de la vaina del haz; (3) Descarboxilación del ácido de cuatro carbonos y generación de una alta concentración de CO_2 en las células de la vaina del haz. El CO_2 liberado es fijado por la rubisco y convertido en carbohidratos por el ciclo de Calvin. (4) Transporte del ácido residual de tres carbonos a las células del mesofilo, donde se regenera el aceptor inicial de CO_2, el fosfoenolpiruvato.

El ciclo C_4 concentra CO_2 en las células de la vaina

El ciclo C_4 básico consta de cuatro etapas:

1. Fijación de CO_2 por carboxilación del fosfoenolpiruvato en las células del mesofilo para formar un ácido C_4 (malato y/o aspartato)
2. Transporte de los ácidos C_4 a las células de la vaina

TABLA 8.3
Reacciones del ciclo fotosintético C_4 del carbono

Enzima	Reacción
1. Fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilasa	Fosfoenolpiruvato + HCO_3^- → oxalacetato + P_i
2. NADP:malato deshidrogenasa	Oxalacetato + NADPH + H^+ → malato + $NADP^+$
3. Aspartato aminotransferasa	Oxalacetato + glutamato → aspartato + α-cetoglutarato
4. Enzima NAD(P) málico	Malato + $NAD(P)^+$ → piruvato + CO_2 + NAD(P)H + H^+
5. Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa	Oxalacetato + ATP → fosfoenolpiruvato + CO_2 + ADP
6. Alanina aminotransferasa	Piruvato + glutamato ↔ alanina + α-cetoglutarato
7. Adenilato quinasa	AMP + ATP → 2 ATP
8. Piruvato ortofosfato diquinasa	Piruvato + P_i + ATP → fosfoenolpiruvato + AMP + PP_i
9. Pirofosfatasa	PP_i + H_2O → 2 P_i

Nota: P_i y PP_i se refieren al fosfato inorgánico y al pirofosfato, respectivamente.

3. Descarboxilación de los ácidos C_4 en las células de la vaina y generación de CO_2, que es reducido a carbohidrato mediante el ciclo de Calvin
4. Transporte de un ácido C_3 (piruvato o alanina), formado en la etapa de descarboxilación, de vuelta a las células del mesofilo y regeneración del aceptor de CO_2, el fosfoenolpiruvato.

Una característica interesante del ciclo es que la regeneración del aceptor primario, el fosfoenolpiruvato, consume dos enlaces fosfato de «alta energía»: uno en la reacción catalizada por la piruvato ortofosfato diquinasa (Tabla 8.3, reacción 8) y otro en la conversión de PP_i a $2P_i$, catalizada por la pirofosfatasa (reacción 9; véase también la figura 8.11).

El movimiento de metabolitos entre las células del mesofilo y las de la vaina está dirigido por gradientes de difusión a lo largo de los numerosos plasmodesmos, y el transporte en las células está regulado por gradientes de concentración y la acción de transportadores específicos en la membrana del cloroplasto. Así, el ciclo transporta de forma efectiva el CO_2 desde la atmósfera al interior de las células de la vaina. Este proceso de transporte genera una concentración de CO_2 mucho más alta en las células de la vaina que la que existiría en equilibrio con la atmósfera exterior. Esta elevada concentración de CO_2 en el sitio de carboxilación de la rubisco provoca la supresión de la oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato y, por tanto, la fotorrespiración.

El ciclo C_4, descubierto inicialmente en herbáceas tropicales como caña de azúcar y maíz, se sabe que está presente en 16 familias, tanto de monocotiledóneas co-

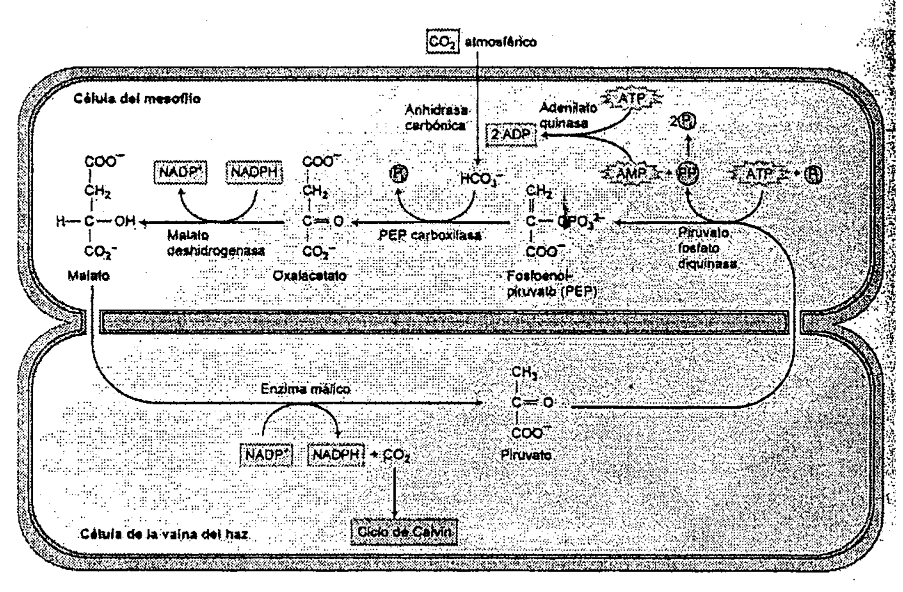


Figura 8.11 La ruta fotosintética C_4. La hidrólisis de dos moléculas de ATP dirige el ciclo en la dirección de las flechas, bombeando CO_2 desde la atmósfera al ciclo de Calvin en los cloroplastos de las células de la vaina.

mo de dicotiledóneas, y es de particular importancia en las familias Gramineae (maíz, mijo, sorgo y caña de azúcar), Chenopodiaceae (*Atriplex*) y Ciperaceae (juncos). Cerca de un 1% de las especies conocidas tienen metabolismo C_4 (Edwards y Walter 1983).

Existen tres variantes de la ruta C_4 básica descritas en diferentes especies (véase el **tema web 8.7**). Las variaciones difieren principalmente en el ácido C_4 (malato o aspartato) transportado al interior de las células de la vaina y en el mecanismo por el que se produce la descarboxilación.

La concentración del CO_2 en las células de la vaina implica un coste energético

El efecto neto del ciclo C_4 es convertir la solución diluida de CO_2 de las células del mesofilo en una solución concentrada en las células de la vaina. Los estudios con mutantes deficientes en la PEP carboxilasa en *Amaranthus edulis* mostraron claramente que la falta de un mecanismo efectivo para concentrar CO_2 en la vaina aumentaba notablemente la fotorrespiración de las plantas C_4 (Dever y col. 1996).

TABLA 8.4
Energética del ciclo fotosintético del carbono

Fosfoenolpiruvato + H_2O + NADPH + CO_2 (mesofilo)	→	Malato + $NADP^+$ + P_i (mesofilo)
Malato + $NADP^+$	→	Piruvato + NADPH + CO_2 (vaina)
Piruvato + P_i + ATP	→	Fosfoenolpiruvato + AMP + PP_i (mesofilo)
PP_i + H_2O	→	2 P_i (mesofilo)
AMP + ATP	→	2 ADP
Neto: CO_2 (mesofilo) + 2 ATP + 2 H_2O	→	CO_2 (vaina) + 2 ADP + 2 P_i

Nota: Como se muestra en la reacción de la tabla 8.3, el H_2O y el CO_2 de la primera reacción de esta tabla reaccionan con el fosfoenolpiruvato como HCO_3^-.
P_i y PP_i se refieren al fosfato inorgánico y al pirofosfato, respectivamente.

La termodinámica establece que se debe realizar un trabajo para crear y mantener el gradiente de concentración en la vaina (para un análisis termodinámico más detallado, véase el capítulo 2 en la página Web). Este principio también se aplica a la acción del ciclo C_4. Teniendo en cuenta todas las reacciones implicadas, podemos calcular el coste energético para la planta (Tabla 8.4). Este cálculo muestra que el mecanismo de concentración del CO_2 consume dos moléculas de ATP (2 enlaces de «alta energía») por molécula de CO_2 transportada. Así, la energía total requerida para fijar CO_2 por los ciclos combinados C_4 y de Calvin (calculado en las tablas 8.4 y 8.1, respectivamente) es de cinco moléculas de ATP y dos de NADPH por molécula de CO_2 fijada.

Debido a la elevada demanda energética, las plantas C_4 que fotosintetizan en condiciones de no fotorrespiración (alto CO_2 y bajo O_2), necesitan más cuantos de luz por CO_2 fijado que las plantas C_3. En una atmósfera normal, el requerimiento cuántico de las plantas C_3 varía con los factores que afectan al equilibrio entre la fotosíntesis y la fotorrespiración, como la temperatura. Por el contrario, debido a este mecanismo que consigue evitar la fotorrespiración, el requerimiento cuántico de las plantas C_4 es más o menos constante en diferentes condiciones ambientales (véase la figura 9.23).

La luz regula las actividades enzimáticas claves en el ciclo C_4

La luz es esencial para la acción del ciclo C_4 porque regula varios enzimas específicos. Por ejemplo, la actividad de la PEP carboxilasa, NADP:malato deshidrogenasa y piruvato ortofosfato diquinasa (véase la tabla 8.3) son reguladas como respuesta a variaciones en la densidad de flujo fotónico por dos procedimientos distintos: reducción-oxidación de grupos tiol y fosforilación-desfosforilación.

La NADP:malato deshidrogenasa está regulada por el sistema tiorredoxina del cloroplasto (véase la figura 8.5). El enzima es reducido (activado) por iluminación de las hojas y oxidado (inactivado) en la oscuridad. La PEP carboxilasa es activada por un mecanismo de fosforilación-desfosforilación dependiente de la luz que todavía no ha sido caracterizado.

El tercer componente regulador de la ruta C_4, la piruvato ortofosfato diquinasa, es inactivado rápidamente por una fosforilación inusual dependiente de ADP (Burnell y Hatch 1985), cuando disminuye la intensidad de la luz. La activación se consigue por eliminación de este grupo fosfato. Ambas reacciones de fosforilación y desfosforilación parecen estar catalizadas por una única proteína reguladora.

En climas secos y calurosos, el ciclo C_4 reduce la fotorrespiración y la pérdida de agua

Como comentamos anteriormente, en las plantas C_4 hay dos características del ciclo C_4 que compensan los efectos negativos de las altas temperaturas sobre la fotosíntesis. En primer lugar, la afinidad de la PEP carboxilasa por su sustrato, el HCO_3^-, es suficientemente alta como para que el enzima esté saturado por HCO_3^- en equilibrio con los niveles de CO_2 presentes en el aire. Además, debido a que el sustrato es HCO_3^-, el O_2 no es un competidor en la reacción. Esta alta actividad de la PEP carboxilasa permite a las plantas C_4 reducir la apertura estomática y, por tanto, conservar agua, manteniendo los niveles de fijación de CO_2 mayores o iguales que los de las plantas C_3. La segunda característica favorable es la supresión de la fotorrespiración como consecuencia de la concentración de CO_2 en las células de la vaina (Marocco y col. 1998).

Estas características permiten a las plantas C_4, a temperaturas altas, tener una eficiencia fotosintética mayor que las plantas C_3, y probablemente sea la razón de la relativa abundancia de las plantas C_4 en climas más cálidos y secos. Dependiendo de su entorno natural, algunas plantas muestran propiedades intermedias entre las especies estrictamente C_3 y C_4.

MECANISMOS DE CONCENTRACIÓN DEL CO_2 III: METABOLISMO ÁCIDO DE LAS CRASULÁCEAS

Un tercer mecanismo de concentración de CO_2 es el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). A pesar de su nombre, el mecanismo CAM no está restringido a la familia de las Crassulaceae (*Crassula, Kalanchoe, Sedum*); se encuentra en numerosas familias de angiospermas. Cactus y euforbias son plantas CAM, así como la piña, la vainilla y el ágave.

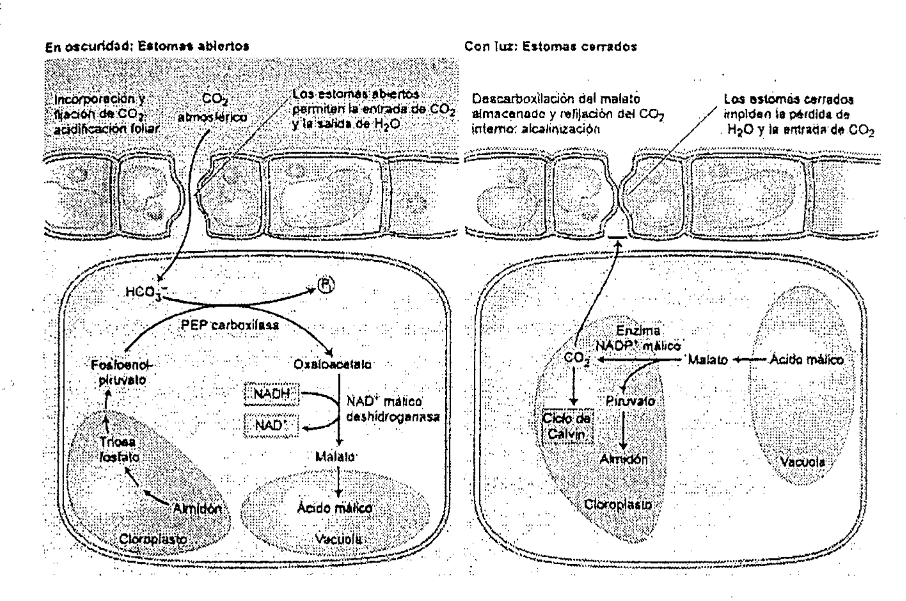


Figura 8.12 El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Separación temporal de la incorporación del CO_2 y de las reacciones fotosintéticas: la incorporación del CO_2 y la fijación tienen lugar por la noche, y la descarboxilación y refijación del CO_2 liberado internamente ocurren durante el día. La ventaja adaptativa de las CAM es la reducción de las pérdidas de agua por transpiración, que se consigue mediante la apertura de los estomas durante la noche.

El mecanismo CAM permite a las plantas mejorar la eficiencia en el uso del agua. Por término medio, una planta CAM pierde de 50 a 100 g de agua por cada gramo de CO_2 ganado, frente a los 250 a 300 g y 400 a 500 g, que pierden las plantas C_4 y C_3, respectivamente (véase el capítulo 4). De esta forma, las plantas CAM presentan una ventaja competitiva en ambientes secos.

El mecanismo CAM es similar en muchos aspectos al ciclo C_4. En plantas C_4, la formación de los ácidos C_4 en el mesofilo está espacialmente separada de la descarboxilación de los ácidos C_4 y la refijación del CO_2 resultante por el ciclo de Calvin en la vaina. En las plantas CAM la formación de los ácidos C_4 está temporal y espacialmente separada. Por la noche, el CO_2 es fijado por la PEP carboxilasa en el citosol y el malato, formado a partir del oxalacetato, se almacena en la vacuola (Figura 8.12). Durante el día, el malato almacenado es transportado al cloroplasto y descarboxilado por el enzima NADP málico, el CO_2 liberado es fijado por el ciclo de Calvin y el NADPH es utilizado para convertir la triosa fosfato descarboxilada en almidón.

Los estomas de las plantas CAM se abren por la noche y se cierran durante el día

Las plantas CAM, como los cactus, presentan una elevada eficiencia en el uso del agua, abriendo sus estomas durante las frías noches desérticas y cerrándolos durante los días secos y calurosos. El cierre estomático durante el día minimiza las pérdidas de agua, pero dado que el agua y el CO_2 comparten la misma ruta de difusión, el CO_2 debe ser asimilado por la noche.

El CO_2 es incorporado por carboxilación del fosfoenolpiruvato a oxalacetato, para ser entonces reducido a malato. El malato se acumula y es almacenado en las grandes vacuolas típicas de las células de las hojas de las plantas CAM (véase la figura 8.12). La acumulación de cantidades sustanciales de ácido málico, equivalente a la cantidad de CO_2 asimilado durante la noche, queda reflejada como una acidificación nocturna de la hoja (Bonner y Bonner 1948).

Con el inicio del día, los estomas se cierran, evitando la pérdida de agua, y con ello la incorporación de más CO_2. Las células de las hojas se alcalinizan a medida que las reservas de ácido málico de sus vacuolas son consumidas. La descarboxilación se consigue por acción del enzima NADP málico sobre el malato (Drincovich y col. 2001). Al cerrarse los estomas, el CO_2 liberado internamente no puede salir de la hoja y se reduce a carbohidratos por el ciclo de Calvin.

La elevada concentración interna de CO_2 suprime de forma efectiva la oxigenación fotorrespiratoria de la ribulosa bisfosfato y favorece la carboxilación. Se cree que los ácidos C_3 obtenidos de la descarboxilación son convertidos primero a triosas fosfato y después a almidón o sacarosa, regenerando así el aceptor inicial de carbono.

La fosforilación regula la actividad de la PEP carboxilasa en plantas C_4 y CAM

El mecanismo CAM que hemos descrito en este análisis requiere la separación de la carboxilación inicial de la descarboxilación posterior, para evitar un ciclo fútil. Además de la separación espacial y temporal que muestran las plantas C_4 y CAM, respectivamente, el ciclo fútil se evita mediante la regulación de la PEP carboxilasa (Figura 8.13). En plantas C_4, la carboxilasa se pone en funcionamiento (o se activa) durante el día, mientras que en las plantas CAM lo hace durante la noche. En ambos tipos de plantas, C_4 y CAM, la PEP carboxilasa es inhibida por malato y activada por glucosa-6-fosfato (para un análisis detallado de la regulación de la PEP carboxilasa, véase el **ensayo web 8.1**).

La fosforilación de un único residuo de serina del enzima CAM disminuye la inhibición por malato y aumenta la acción de la glucosa-6-fosfato, de forma que el enzima se hace catalíticamente más activo (Chollet y col. 1996; Vidal y Chollet 1997) (véase la figura 8.13). La fosforilación está catalizada por la PEP carboxilasa quinasa. La síntesis de esta quinasa es estimulada por la salida de Ca^{2+} de la vacuola al citosol, provocando la activación de una proteína quinasa dependiente de Ca^{2+}-calmodulina (Giglioli-Guivarc'h y col. 1996; Coursol y col. 2000; Nimmo 2000; Bakrim y col. 2001).

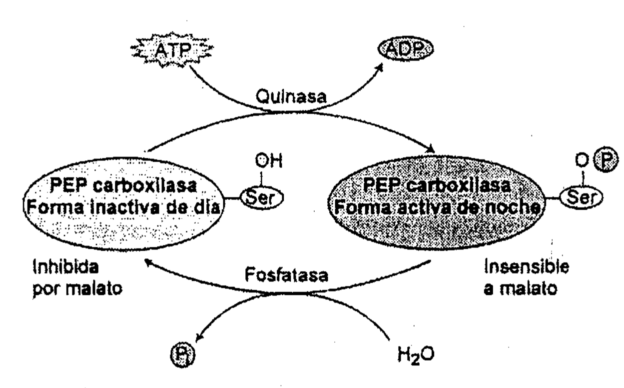


Figura 8.13 Regulación diaria de la fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilasa CAM. La fosforilación de un residuo de serina (Ser-OP) produce una forma del enzima activa durante la noche y relativamente insensible al malato. Durante el día, la desfosforilación de la serina (Ser-OH) genera una forma del enzima inhibida por malato.

Algunas plantas ajustan sus patrones de incorporación de CO_2 a las condiciones ambientales

Las plantas tienen diversos mecanismos que maximizan el aporte de CO_2 y agua durante el desarrollo y la reproducción. Las plantas C_3 regulan la apertura estomática de sus hojas durante el día y cierran los estomas durante la noche. Las plantas C_4 y CAM utilizan la PEP carboxilasa para fijar el CO_2 y separan este enzima de la rubisco bien espacialmente (plantas C_4) o bien temporalmente (plantas CAM).

Algunas plantas CAM presentan una regulación a largo plazo y son capaces de ajustar su patrón de incorporación de CO_2 a las condiciones ambientales. Las plantas CAM facultativas, como *Mesembryanthemum crystallinum*, realizan el metabolismo C_3 bajo condiciones de no estrés, y cambian a CAM en respuesta a estrés por calor, salino o hídrico. Esta forma de regulación requiere la expresión de muchos genes CAM en respuesta a señales de estrés (Adams y col. 1998; Cushman 2001).

En ambientes acuáticos, las cianobacterias y algas verdes tienen abundante agua, pero en su entorno hay bajas concentraciones de CO_2 y concentran activamente el

CO_2 inorgánico intracelular. En diatomeas, que abundan en el fitoplancton, un mecanismo de concentración de CO_2 opera simultáneamente con la ruta C_4 (Reinfelder y col. 2000). Las diatomeas son un ejemplo de organismos fotosintéticos que tienen la capacidad de emplear diferentes mecanismos de concentración de CO_2 en respuesta a fluctuaciones ambientales.

SÍNTESIS DE SACAROSA Y ALMIDÓN

En la mayoría de especies, la sacarosa es la forma principal de transporte de carbohidratos en el floema a través de la planta. El almidón es un carbohidrato de reserva, estable e insoluble que se encuentra en casi todas las plantas. Tanto la sacarosa como el almidón, son sintetizados a partir de las triosas fosfato generadas en el ciclo de Calvin (véase la tabla 8.1) (Beck y Ziegler 1989). Las rutas de síntesis de sacarosa y almidón se muestran en la figura 8.14.

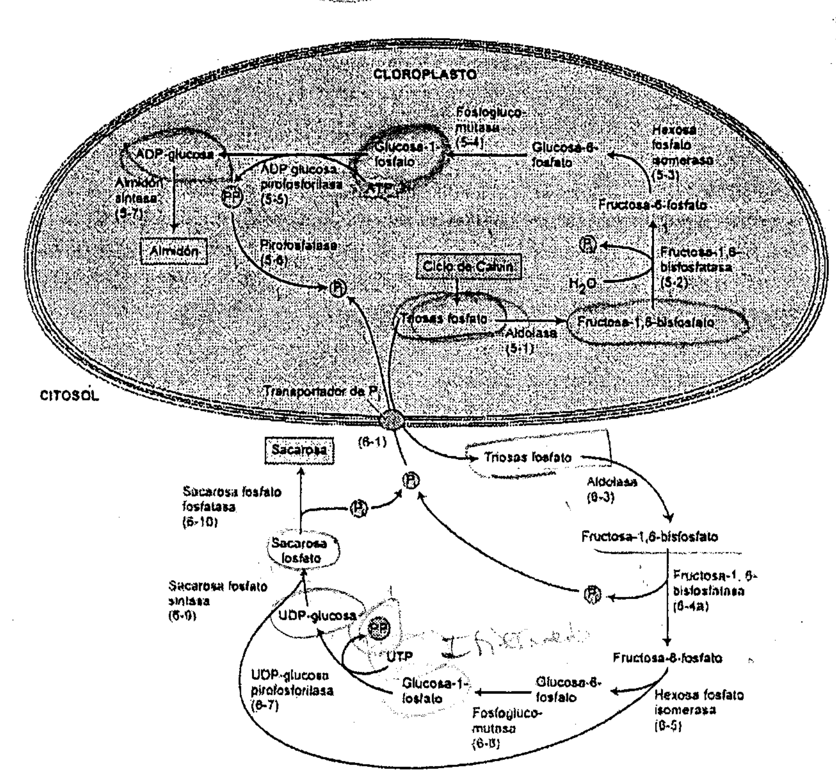


Figura 8.14 La síntesis de almidón y sacarosa son procesos competitivos que se producen en el cloroplasto y en el citosol, respectivamente. Cuando la concentración citosólica de P_i es alta, las triosas fosfato del cloroplasto son exportadas al citosol a través de un transportador que lo intercambia por P_i, y se sintetiza sacarosa. Cuando la concentración citosólica de P_i es baja, las triosas fosfato son retenidas en el cloroplasto y se sintetiza almidón. Los números de las flechas son claves para las Tablas 8.5 y 8.6.

El almidón se sintetiza en los cloroplastos

Tanto las micrografías electrónicas que muestran importantes depósitos de almidón como los estudios de caracterización de enzimas, no dejan margen de duda de que el almidón se sintetiza en los cloroplastos de las hojas (Figura 8.15). El almidón se sintetiza a partir de triosas fosfato vía la fructosa-1,6-bisfosfato (Tabla 8.5 y figura 8.14). El intermediario glucosa-1-fosfato es convertido en ADP-glucosa vía la ADP-glucosa pirofosforilasa (Figura 8.14 y tabla 8.5, reacción 5), en una reacción que requiere ATP y genera pirofosfato (PP_i o $H_2P_2O_7^{2-}$).

Como en muchas reacciones biosintéticas, el pirofosfato es hidrolizado a dos moléculas de ortofosfato (P_i) por una fosfatasa inorgánica específica (Tabla 8.5, reacción 6), dirigiendo la reacción 5 hacia la formación de ADP-glucosa. Finalmente, la glucosa de la ADP-glucosa es transferida al extremo no reductor (carbono 4) de la glucosa terminal de la cadena creciente de almidón (Tabla 8.5, reacción 7), completando la secuencia de reacciones.

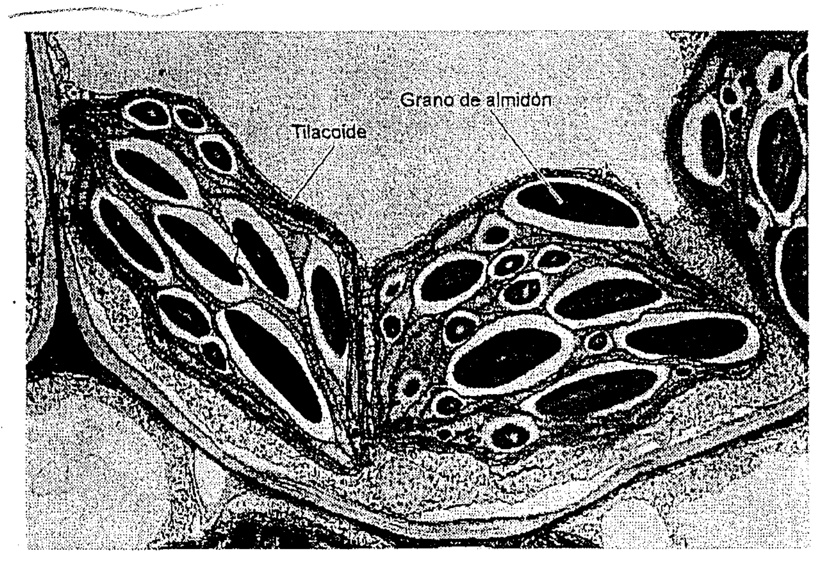


Figura 8.15 Micrografía electrónica de una célula de la vaina del haz de maíz, mostrando los granos de almidón en los cloroplastos (15.800×). (Foto de S. E. Frederick, cortesía de E. H. Newcomb).

TABLA 8.5
Reacciones de la síntesis del almidón a partir de triosas fosfato en el cloroplasto

1. *Fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa*
   Dihidroxiacetona-3-fosfato + gliceraldehído-3-fosfato → fructosa-1,6-bisfosfato
2. *Fructosa-1,6-bisfosfatasa*
   Fructosa-1,6-bisfosfato + H_2O → fructosa-6-fosfato + P_i
3. *Hexosa fosfato isomerasa*
   Fructosa-6-fosfato → glucosa-6-fosfato
4. *Fosfoglucomutasa*
   Glucosa-6-fosfato → glucosa-1-fosfato
5. *ADP-glucosa pirofosforilasa*
   Glucosa-1-fosfato + ATP → ADP-glucosa + PP_i
6. *Pirofosfatasa*
   $PP_i + H_2O \rightarrow 2\ P_i + 2\ H^+$
7. *Almidón sintasa*
   ADP-glucosa + (1,4-α-D-glucosil)$_n$ → ADP + (1,4-α-D-glucosil)$_{n+1}$

Extremo no reductor de una cadena de almidón con n residuos

Almidón alargado con n + 1 residuos

Nota: La reacción 6 es irreversible y desplaza las reacciones anteriores hacia la derecha.
P_i y PP_i se refieren al fosfato inorgánico y al pirofosfato, respectivamente.

TABLA 8.6
Reacciones de la síntesis de sacarosa a partir de triosas fosfato en el citoplasma

1. *Transportador fosfato/triosas fosfato*
   Triosas fosfato (cloroplasto) + P_i (citoplasma) → triosas fosfato (citoplasma) + P_i (cloroplasto)
2. *Triosa fosfato isomerasa*
3. *Fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa*
   Dihidroxiacetona-3-fosfato + gliceraldehído-3-fosfato → fructosa-1,6-bisfosfato

4a. *Fructosa-1,6-fosfatasa*
   Fructosa-1,6-bisfosfato + H_2O → fructosa-6-fosfato + P_i

4b. *Fosfofructoquinasa asociada a PP_i*
   Fructosa-6-fosfato + PP_i → fructosa-1,6-bisfosfato + P_i

5. *Hexosa fosfato isomerasa*
   Fructosa-6-fosfato → glucosa-6-fosfato
6. *Fosfoglucomutasa*
   Glucosa-6-fosfato → glucosa-1-fosfato

TABLA 8.6 (continuación)
Reacciones de la síntesis de sacarosa a partir de triosas fosfato en el citoplasma

7. *UDP-glucosa pirofosforilasa*
Glucosa-1-fosfato + UTP $\rightarrow$ UDP-glucosa + PP_i

8. *Pirofosfatasa*
$PP_i + H_2O \rightarrow 2\ P_i + 2\ H^+$

9. *Sacarosa fosfato sintasa*
UDP-glucosa + fructosa-6-fosfato $\rightarrow$ UDP + sacarosa-6-fosfato

10. *Sacarosa fosfato fosfatasa*
Sacarosa-6-fosfato + $H_2O \rightarrow$ sacarosa + P_i

Nota: La reacción 1 tiene lugar en la membrana interna del cloroplasto. Las reacciones 2 a 10 tienen lugar en el citoplasma. La reacción 8 es irreversible y desplaza las reacciones anteriores hacia la derecha.
P_i y PP_i se refieren al fosfato inorgánico y al pirofosfato, respectivamente.

La sacarosa se sintetiza en el citosol

El lugar de síntesis de la sacarosa se ha estudiado por fraccionamiento celular, técnica que permite separar y aislar los orgánulos. Los análisis enzimáticos han demostrado que la sacarosa se sintetiza en el citosol, a partir de triosas fosfato, en una ruta similar a la del almidón, es decir, a través de fructosa-1,6-bisfosfato y glucosa-1-fosfato (Figura 8.14 y tabla 8.6, reacciones 2-6).

En la síntesis de sacarosa, la glucosa-1-fosfato es convertida en UDP-glucosa por una UDP-glucosa pirofosforilasa específica (Tabla 8.6, reacción 7) análoga a la ADP-glucosa pirofosforilasa de los cloroplastos. En este punto, la síntesis de sacarosa se completa con dos reacciones consecutivas (Huber y Huber 1996). En primer lugar, la sacarosa-6-fosfato sintasa cataliza la reacción de la UDP-glucosa con la fructosa-6-fosfato para generar sacarosa-6-fosfato y UDP (Tabla 8.6, reacción 9). En segundo lugar, la sacarosa-6-fosfato fosfatasa (fosfohidrolasa) rompe el fosfato de la sacarosa-6-fosfato, generando sacarosa (Tabla 8.6, reacción 10). Esta última reacción, prácticamente irreversible, desplaza la primera reacción a favor de la síntesis de sacarosa.

Al igual que en la síntesis de almidón, el pirofosfato formado en la reacción catalizada por la UDP-glucosa pirofosforilasa (Tabla 8.6, reacción 7) es hidrolizado, pero no inmediatamente como en los cloroplastos. Debido a la ausencia de una pirofosfatasa inorgánica, el pirofosfato puede ser utilizado por otros enzimas, en reacciones de transfosforilación. Un ejemplo es la fructosa-6-fosfato fosfotransferasa, un enzima que cataliza una reacción como la catalizada por la fosfofructoquinasa (Tabla 8.6, reacción 4a), excepto que el pirofosfato sustituye al ATP como dador del fosforilo.

Una comparación de las reacciones de las tablas 8.5 y 8.6 (como se muestra en la figura 8.14) indica que la conversión de triosas fosfato a glucosa-1-fosfato tienen varios pasos en común en las rutas que conducen a la síntesis de almidón y sacarosa. No obstante, estas rutas utilizan isozimas (formas diferentes de un enzima que catalizan la misma reacción) específicas del cloroplasto o del citosol.

Los isozimas tienen propiedades claramente diferentes. Por ejemplo, la fructosa-1,6-bisfosfatasa cloroplástica es regulada por el sistema tiorredoxina, pero no por fructosa-2,6-bisfosfato y AMP. Por el contrario, la forma citosólica del enzima está regulada por fructosa-2,6-bisfosfato (véase la sección siguiente), es sensible a AMP, especialmente en presencia de fructosa-2,6-bisfosfato, y no se ve afectada por la tiorredoxina.

Además de la forma citosólica de la fructosa-1,6-bisfosfatasa, la síntesis de sacarosa está regulada a nivel de la sacarosa fosfato sintasa, un enzima alostérico que es activado por la glucosa-6-fosfato e inhibido por ortofosfato. El enzima es inactivado por la oscuridad por fosforilación de un residuo de serina específico vía una proteína quinasa, y activado en presencia de luz por desfosforilación, vía una proteína fosfatasa. La glucosa-6-fosfato inhibe la quinasa y el P_i inhibe la fosfatasa.

La reciente purificación y clonación de la sacarosa-6-fosfato fosfatasa de hojas de arroz (Lund y col. 2000) está proporcionando nueva información sobre las propiedades moleculares y funcionales de este enzima. Estos estudios indican que la sacarosa-6-fosfato sintasa y la sacarosa-6-fosfatasa se presentan como un complejo supramolecular de actividad enzimática superior a la de sus componentes aislados (Salerno y col. 1996). Esta interacción no covalente de dos enzimas implicados en los

dos últimos pasos de la síntesis de sacarosa aporta una característica reguladora nueva del metabolismo de carbohidratos en plantas.

La síntesis de sacarosa y almidón son reacciones que compiten

Las concentraciones relativas de ortofosfato y triosas fosfato son los componentes claves que controlan si el carbono fijado por fotosíntesis es canalizado hacia almidón en el cloroplasto o hacia sacarosa en el citosol. Los dos compartimentos están comunicados a través de un transportador de fosfato/triosa fosfato, también llamado transportador fosfato (véase la tabla 8.6, reacción 1), con una estequiometría estrictamente antiporte.

El transportador de fosfato cataliza el movimiento de ortofosfato y triosas fosfato en direcciones opuestas entre el cloroplasto y el citosol. Una baja concentración de ortofosfato en el citosol limita la cantidad de triosa fosfato exportada por el transportador r, promoviendo por ello la síntesis de almidón. Por el contrario, grandes cantidades de ortofosfato en el citosol inhiben la síntesis de almidón en el cloroplasto y promueve la salida de triosas fosfato al citosol, donde son convertidas en sacarosa.

El ortofosfato y las triosas fosfato controlan la actividad de varios enzimas reguladores en las rutas biosintéticas de sacarosa y almidón. La ADP-glucosa fosforilasa cloroplástica (véase la tabla 8.5, reacción 5), es el enzima clave que regula la síntesis de almidón a partir de glucosa-1-fosfato. Este enzima es estimulado por 3-fosfoglicerato e inhibido por ortofosfato. En cloroplastos iluminados que sintetizan activamente almidón se encuentra una proporción elevada de 3-fosfoglicerato respecto al ortofosfato. En oscuridad las condiciones se invierten.

La fructosa-2,6-bisfosfato es una molécula clave que permite un aumento de la síntesis de sacarosa en presencia de luz y una disminución de su síntesis en oscuridad. Este componente se encuentra en el citosol a bajas concentraciones y ejerce su efecto regulador en la interconversión citosólica de fructosa-1,6-bisfosfato a fructosa-6-fosfato (Huber 1986; Stitt 1990):

Fructosa-2,6-bisfosfato (un metabolito regulador)

Fructosa-1,6-bisfosfato (un metabolito intermedio)

Una concentración alta de fructosa-2,6-bisfosfato en el citosol está asociada con una disminución en la tasa de síntesis de sacarosa porque la fructosa-2,6-bis-

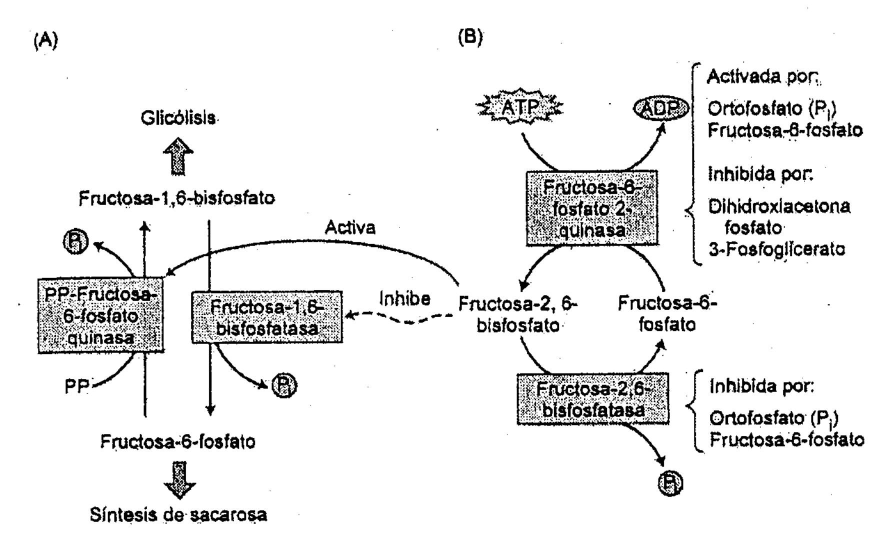


Figura 8.16 Regulación de la interconversión citosólica de fructosa-6-fosfato y fructosa-1,6-bisfosfato. (A) Metabolitos claves en el reparto entre glicólisis y síntesis de sacarosa. El metabolito regulador, fructosa-2,6-bisfosfato, regula la interconversión por inhibición de la fosfatasa y activación de la quinasa. (B) La propia síntesis de la fructosa-2,6-bisfosfato está bajo la estricta regulación de los activadores e inhibidores que se muestran en la figura.

fosfato es un potente inhibidor de la fructosa-1,6-bisfosfatasa citosólica (véase la tabla 8.6, reacción 4a) y un activador de la fosfofructoquinasa dependiente de pirofosfato (PP_i) (reacción 4b). Pero ¿qué controla la concentración citosólica de fructosa-2,6-bisfosfato?

La fructosa-2,6-bisfosfato es sintetizada a partir de fructosa-6-fosfato por una fructosa-6-fosfato 2-quinasa especial (no confundir con la fructosa-6-fosfato 1-quinasa de la glicólisis) y es degradada específicamente por la fructosa-2,6-bisfosfatasa (no confundir con la fructosa-1,6-bisfosfatasa del ciclo de Calvin). Evidencias recientes sugieren que, al igual que en las células animales, ambas actividades residen en una única cadena polipeptídica en vegetales.

Las actividades quinasa y fosfatasa están controladas por ortofosfato y triosas fosfato. El ortofosfato estimula la fructosa-6-fosfato 2-quinasa e inhibe a la fructosa-2,6-bisfosfatasa; las triosas fosfato inhiben la 2-quinasa (Figura 8.16). Como consecuencia, una baja proporción citosólica entre triosas fosfato y ortofosfato promueve la formación de fructosa-2,6-bisfosfato, que, a su vez, inhibe la hidrólisis de la fructosa-1,6-bisfosfato citosólica y reduce la tasa de síntesis de sacarosa. Una alta proporción citosólica entre triosas fosfato y ortofosfato tiene el efecto contrario.

La luz regula las concentraciones de estos activadores e inhibidores a través de

reacciones asociadas con la fotosíntesis y, por tanto, controla la concentración de fructosa-2,6-bisfosfato en el citosol. El enzima glicolítico fosfofructoquinasa también participa en la conversión de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato, pero en plantas no parece verse afectada apreciablemente por la fructosa-2,6-bisfosfato.

La actividad de la fosfofructoquinasa en plantas parece estar regulada por las concentraciones relativas de ATP, ADP y AMP. La gran plasticidad de las plantas queda de nuevo patente en experimentos recientes de deleción de genes con plantas de tabaco transformadas. Este experimento muestra que las plantas transformadas pueden crecer sin una fructosa-6-fosfato quinasa dependiente de pirofosfato funcional. En este caso, la conversión de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato aparentemente está exclusivamente catalizada por fosfofructoquinasa (Paul y col. 1995).

RESUMEN

La reducción del CO_2 a carbohidratos a través de las reacciones ligadas al carbono de la fotosíntesis está acoplada al consumo de NADPH y ATP, sintetizados durante las reacciones luminosas en las membranas de los tilacoides. Todos los eucariotas fotosintéticos reducen el CO_2 a través del ciclo de Calvin que tiene lugar en el estroma o fase soluble de los cloroplastos. Aquí, el CO_2 y el agua se combinan con la ribulosa-1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato, que será reducido y convertido en carbohidratos. El funcionamiento continuado de este ciclo está asegurado por la regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato. El ciclo de Calvin consume dos moléculas de NADPH y tres moléculas de ATP por cada molécula de CO_2 fijada y, proporcionados estos sustratos, tiene una eficiencia termodinámica cercana al 90%.

Varios sistemas dependientes de la luz actúan conjuntamente para regular el ciclo de Calvin: cambios en los iones (Mg^{2+} y H^+), metabolitos efectores (sustratos de enzimas) y sistemas mediados por proteínas (rubisco activasa, sistema ferredoxina-tiorredoxina).

El sistema de control ferredoxina-tiorredoxina, tiene un papel muy versátil al conectar la luz con la regulación de otros procesos en los cloroplastos, como la degradación de los carbohidratos, la fotofosforilación, la biosíntesis de los ácidos grasos y la traducción del mRNA. El control de estas reacciones por la luz separa las rutas biosintéticas de los procesos degradativos y con ello minimiza las pérdidas de recursos que se producirían si los procesos actuaran a la vez.

La rubisco, el enzima que cataliza la carboxilación de la ribulosa-1,5-bisfosfato, también actúa como oxigenasa. En ambos casos el enzima deber ser carbamilado para ser completamente activo. Las reacciones de carboxilación y oxigenación se producen en el mismo sitio activo de la rubisco. Cuando el enzima reacciona con el oxígeno, produce 2-fosfoglicolato y 3-fosfoglicerato a partir de ribulosa-1,5-bisfosfato, en lugar de las dos moléculas de 3-fosfoglicerato que genera cuando reacciona con CO_2, disminuyendo la eficiencia de la fotosíntesis.

El ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono recupera parte del carbono perdido como 2-fosfoglicolato por la actividad oxigenasa de la rubisco. Los efectos disipativos de la fotorrespiración se evitan en algunas plantas mediante mecanismos que concentran el CO_2 en los sitios de carboxilación en el cloroplasto. Estos mecanismos incluyen el ciclo fotosintético C_4 del carbono, el metabolismo CAM y las «bombas de CO_2» de algas y cianobacterias.

Los carbohidratos sintetizados por el ciclo de Calvin se transforman en formas de almacenamiento de energía: sacarosa y almidón. La sacarosa, la forma transportable de carbono y energía de la mayoría de las plantas, se sintetiza en el citosol, y su síntesis está regulada por la fosforilación de la sacarosa fosfato sintasa. El almidón se sintetiza en el cloroplasto. El equilibrio entre estas dos rutas metabólicas está regulado por las concentraciones relativas de metabolitos efectores (ortofosfato, fructosa-6-fosfato, 3-fosfoglicerato y dihidroxiacetona fosfato).

Estos metabolitos efectores funcionan en el citosol a través de enzimas que sintetizan y degradan fructosa-2,6-bisfosfato, el metabolito regulador que juega un papel central en el control de la canalización del carbono fijado fotosintéticamente hacia sacarosa o almidón. Dos de estos efectores, el 3-fosfoglicerato y el ortofosfato, también actúan en la síntesis del almidón en el cloroplasto por regulación alostérica de la ADP-glucosa fosforilasa. En esta ruta, la síntesis de almidón a partir de las triosas fosfato durante el día puede separarse de su degradación, que es necesaria durante la noche para proporcionar energía.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

8.1 Cómo se descubrió el ciclo de Calvin
Los experimentos realizados en los años 1950s y que permitieron el descubrimiento de la ruta de fijación del CO_2.

8.2 La rubisco: un enzima modelo para estudiar estructura y función
Dado que es el enzima más abundante de la Tierra, la rubisco se obtiene en cantidades suficientes como para permitir determinar su estructura y propiedades catalíticas.

8.3 El dióxido de carbono: algunas propiedades fisicoquímicas importantes
Las plantas se han adaptado a las propiedades del CO_2, alterando las reacciones que catalizan su fijación.

8.4 Las tiorredoxinas
Descubiertas inicialmente como reguladores de enzimas cloroplásticos, ahora se sabe que las tiorredoxinas tienen un papel regulador en todos los tipos de células.

8.5 La rubisco activasa
La rubisco es única entre los enzimas del ciclo de Calvin por su regulación por una proteína específica, la rubisco activasa.

8.6 Acción del ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono
Los enzimas del ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono se localizan en diferentes orgánulos.

8.7 Tres variantes del metabolismo C_4
Ciertas reacciones de la ruta fotosintética C_4 varían entre diferentes especies vegetales.

ENSAYOS WEB

8.1 Modulación de la fosfoenolpiruvato carboxilasa en plantas C_4 y CAM
El enzima fijador del CO_2, fosfoenolpiruvato carboxilasa, es regulado de diferentes formas en especies C_4 y CAM.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Adams P., Nelson D. E., Yamada S., Chmara W., Jensen R. G., Bohnert H. J. y Griffiths H. (1998) Tansley Review No. 97; Growth and development of *Mesembryanthemum crystallinum*. *New Phytol.* 138:171–190.

Bakrim N., Brulfert J., Vidal J. y Chollet R. (2001) Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase is controlled by a similar signaling cascade in CAM and C_4 plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 286: 1158–1162.

Beck E. y Ziegler P. (1989) Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 95–118.

Besse I. y Buchanan B. B. (1997) Thioredoxin-linked plant and animal processes: The new generation. *Bot. Bull. Acad. Sinica* 38: 1–11.

Bonner W. y Bonner J. (1948) The role of carbon dioxide in acid formation by succulent plants. *Am. J. Bot.* 35: 113–117.

Buchanan B. B. (1980) Role of light in the regulation of chloroplast enzymes. *Annu. Rev. Plant Phsyiol.* 31: 341–394.

Burnell J. N. y Hatch M. D. (1985) Light–dark modulation of leaf pyruvate, P_i dikinase. *Trends Biochem. Sci.* 10: 288–291.

Chollet R., Vidal J. y O'Leary M. H. (1996) Phosphoenolpyruvate carboxylase: A ubiquitous, highly regulated enzyme in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 273–298.

Coursol S., Giglioli-Guivarc'h N., Vidal J. y Pierre J.-N. (2000) An increase in the phosphoinositide-specific phospholipase C activity precedes induction of C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase phosphorylation in illuminated and NH_4Cl-treated protoplasts from *Digitaria sanguinalis*. *Plant J.* 23: 497–506.

Craig S. y Goodchild D. J. (1977) Leaf ultrastructure of *Triodia irritans*: A C_4 grass possessing an unusual arrangement of photosynthetic tissues. *Aust. J. Bot.* 25: 277–290.

Cushman J. C. (2001) Crassulacean acid metabolism: A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiol.* 127: 1439–1448.

Dai S., Schwendtmayer C., Schürmann P., Ramaswamy S. y Eklund H. (2000) Redox signaling in chloroplasts: Cleavage of disulfides by an iron-sulfur cluster. *Science* 287: 655–658.

Dever L. V., Bailey K. J., Lacuesta M., Leegood R. C. y Lea P. J. (1996) The isolation and characterization of mutants of the C_4 plant *Amaranthus edulis*. *Comp. Rend. Acad. Sci., III.* 919–959.

Drincovich M. F., Casati P. y Andreo C. S. (2001) NADP-malic enzyme from plants: A ubiquitous enzyme involved in different metabolic pathways. *FEBS Lett.* 490: 1–6.

Edwards G. E. y Walker D. (1983) *C_3, C_4: Mechanisms and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis.* University of California Press, Berkeley.

Flügge U. I. y Heldt. H. W. (1991) Metabolite translocators of the chloroplast envelope. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 129–144.

Frederick S. E. y Newcomb E. H. (1969) Cytochemical localization of catalase in leaf microbodies (peroxisomes). *J. Cell Biol.* 43: 343–353.

Giglioli-Guivarc'h N., Pierre J.-N., Brown S., Chollet R., Vidal J. y Gadal P. (1996) The light-dependent transduction pathway controlling the regulatory phosphorylation of C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase in protoplasts from *Digitaria sanguinalis*. *Plant Cell* 8: 573–586.

Hatch M. D. y Slack C. R. (1966) Photosynthesis by sugarcane leaves. A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. *Biochem. J.* 101: 103–111.

Heldt H. W. (1979) Light-dependent changes of stromal H^+ and Mg^{2+} concentrations

controlling CO_2 fixation. En *Photosynthesis II (Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 6) M. Gibbs y E. Latzko, eds. Springer, Berlin, págs. 202–207.
Huber S. C. (1986) Fructose-2,6-bisphosphate as a regulatory metabolite in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37: 233–246.
Huber S. C. y Huber J. L. (1996) Role and regulation of sucrose-phosphate synthase in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 431–444.
Kozaki A. y Takeba G. (1996) Photorespiration protects C_3 plants from photooxidation. *Nature* 384: 557–560.
Ku S. B. y Edwards G. E. (1978) Oxygen inhibition of photosynthesis. III. Temperature dependence of quantum yield and its relation to O_2/CO_2 solubility ratio. *Planta* 140: 1–6.
Leegood R. C. Lea P. J., Adcock M. D. y Haeusler R. D. (1995) The regulation and control of photorespiration. *J. Exp. Bot.* 46: 1397–1414.
Lorimer G. H. (1981) The carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-bisphosphate: The primary events in photosynthesis and photorespiration. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32 349–383.
Lorimer G. H. (1983) Ribulose-1,5-bisphosphate oxygenase. *Annu.Rev. Biochem.* 52: 507–535.
Lund J. E., Ashton A. R., Hatch M. D. y Heldt H. W. (2000) Purification, molecular cloning, and sequence analysis of sucrose-6-phosphate phosphohydrolase from plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 12914–12919.
Lüttge U. y Higinbotham N. (1979) *Transport in Plants.* Springer-Verlag, New York.
Maier R. M., Neckermann K., Igloi G. L. y Koessel H. (1995) Complete sequence of the maize chloroplast genome: Gene content, hotspots of divergence and fine tuning of genetic information by transcript editing. *J. Mol. Biol.* 251: 614–628.
Maroco J. P., Ku M. S. B., Lea P. J., Dever L. V., Leegood R. C., Furbank R. T. y Edwards G. E. (1998) Oxygen requirement and inhibition of C_4 photosynthesis: An analysis of C_4 plants deficient in the C_3 and C_4 cycles. *Plant Physiol.* 116: 823–832.
Nimmo H. G. (2000) The regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in CAM plants. *Trends Plant Sci.* 5: 75–80.
Ogawa T. y Kaplan A. (1987) The stoichiometry between CO_2 and H^+ fluxes involved in the transport of inorganic carbon in cyanobacteria. *Plant Physiol.* 83: 888–891.
Ogren W. L. (1984) Photorespiration: Pathways, regulation and modification. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 415–422.
Paul M., Sonnewald U., Hajirezaei M., Dennis D. y Stitt M. (1995) Transgenic tobacco plants with strongly decreased expression of pyrophosphate: Fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase do not differ significantly from wild type in photosynthate partitioning, plant growth or their ability to cope with limiting phosphate, limiting nitrogen and suboptimal temperatures. *Planta* 196: 277–283.

urton S. (1995) The chloroplast genome of *Chlamydomonas. Sci. Prog.* 78: 205–216.
.einfelder J. R., Kraepiel A. M. L. y Morel F. M. M. (2000) Unicellular C_4 photosynthesis in a marine diatom. *Nature* 407: 996–999.
alerno G. L., Echeverria E. y Pontis H. G. (1996) Activation of sucrose-phosphate synthase by a protein factor/sucrose-phosphate phosphatase. *Cell. Mol. Biol.* 42: 665–672.
alvucci M. E. y Ogren W. L. (1996) The mechanism of Rubisco activase: Insights from studies of the properties and structure of the enzyme. *Photosynth. Res.* 47: 1–11.
chürmann P. y Jacquot J.-P. (2000) Plant thioredoxin systems revisited. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 371–400.
titt M. (1990) Fructose-2,6-bisphosphate as a regulatory molecule in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 153–185.
olbert N. E. (1981) Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes. *Annu. Rev. Biochem.* 50: 133–157.
idal J. y Chollet R. (1997) Regulatory phosphorylation of C_4 PEP carboxylase. *Trends Plant Sci.* 2: 230–237.
/olosiuk R. A., Ballicora M. A. y Hagelin K. (1993) The reductive pentose phosphate cycle for photosynthetic carbon dioxide assimilation: Enzyme modulation. *FASEB J.* 7: 622–637.
iang Y., Zhang J. y Weeks D. P. (2001) The Cia5 gene controls formation of the carbon concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5341–5346.
hang N. y Portis A. R. (1999) Mechanism of light regulation of Rubisco: A specific role for the larger Rubisco activase isoform involving reductive activation by thioredoxin-f. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 9438–9443.

Capítulo 9

FOTOSÍNTESIS: CONSIDERACIONES FISIOLÓGICAS Y ECOLÓGICAS

LA CONVERSIÓN DE ENERGÍA SOLAR en energía química, en forma de compuestos orgánicos, es un proceso complejo que incluye el transporte de electrones y el metabolismo fotosintético del carbono (véanse los capítulos 7 y 8). El análisis realizado de las reacciones fotoquímicas y bioquímicas de la fotosíntesis no proporciona una visión global ya que, en condiciones naturales, el proceso de la fotosíntesis tiene lugar en organismos intactos que están respondiendo continuamente a cambios externos e internos. Este capítulo se centra en las respuestas fotosintéticas de la hoja intacta a su entorno. Las respuestas fotosintéticas adicionales a los diferentes tipos de estrés están recogidas en el capítulo 25.

El impacto del ambiente en la fotosíntesis es muy importante para fisiólogos vegetales y agrónomos. Desde un punto de vista fisiológico, para comprender cómo responde la fotosíntesis a factores ambientales como la luz, la concentración de dióxido de carbono ambiental y la temperatura. La dependencia del entorno en el proceso fotosintético es importante para los agrónomos porque la productividad y, por tanto, el rendimiento de los cultivos, depende en gran medida de la tasa fotosintética en un ambiente que cambia constantemente.

En el estudio de la dependencia ambiental de la fotosíntesis, la pregunta inmediata es: ¿Cuantos factores ambientales pueden limitar la fotosíntesis al mismo tiempo? El fisiólogo británico F. F. Blackman postuló en 1905 que, en cualquier condición, la tasa fotosintética estará limitada por la etapa más lenta, llamado por ello **factor limitante**.

La implicación de esta hipótesis es que, en cualquier momento, la fotosíntesis puede estar limitada por la luz o por la concentración de dióxido de carbono, pero no por ambos factores. Esta hipótesis ha tenido una marcada influencia en las aproximaciones utilizadas por los fisiólogos vegetales para estudiar la fotosíntesis, es decir, se ha estudiado la fotosíntesis variando un factor y manteniendo las demás condiciones ambientales constantes.

TABLA 9.1
Algunas características de las limitaciones de la tasa fotosintética

	Condiciones que conducen a esta limitación		Respuestas de la fotosíntesis bajo esta limitación		
	CO_2	Luz	CO_2	O_2	Luz
Actividad rubisco	Baja	Alta	Fuerte	Fuerte	Ausente
Regeneración de RuBP	Alta	Baja	Moderada	Moderada	Fuerte

En la hoja intacta, se han identificado tres etapas metabólicas cruciales para el óptimo funcionamiento fotosintético:

1. La actividad de la rubisco
2. La regeneración de la ribulosa bisfosfato (RuBP)
3. El metabolismo de las triosas fosfato

Las dos primeras etapas son las que predominan en condiciones naturales. La tabla 9.1 muestra algunos ejemplos de cómo la luz y el dióxido de carbono pueden afectar a estas etapas metabólicas claves. En las secciones siguientes, analizaremos con detalle los aspectos biofísicos, bioquímicos y ambientales de la fotosíntesis.

LUZ, HOJAS Y FOTOSÍNTESIS

Las hojas incorporan nuevos niveles de complejidad al funcionamiento de la fotosíntesis en los cloroplastos (estudiados en los capítulos 7 y 8). Al mismo tiempo, las propiedades estructurales y funcionales de la hoja hacen posible otros niveles de regulación.

Empezaremos examinando cómo la anatomía de la hoja y los movimientos de los cloroplastos y las hojas controlan la absorción de luz durante la fotosíntesis. Describiremos entonces cómo los cloroplastos y las hojas se adaptan a la luz de su entorno y cómo la respuesta fotosintética de las hojas que crecen en condiciones de luz de baja intensidad refleja su adaptación a ambientes con poca luz. Las hojas son capaces de adaptarse también a ambientes con luz intensa, mostrando la alta versatilidad fisiológica de las plantas y su adaptabilidad al entorno inmediato.

Tanto la intensidad de la luz como la cantidad de CO_2 determinan la respuesta fotosintética de las hojas. En algunas situaciones, la fotosíntesis está limitada por un aporte inadecuado de luz o de CO_2. En otras situaciones, la absorción de luz en exceso puede provocar problemas severos y por ello, existen mecanismos especiales que protegen al sistema fotosintético de una luz demasiado intensa. Los numerosos

niveles de control sobre la fotosíntesis permiten que las plantas crezcan satisfactoriamente en un entorno que cambian continuamente y en hábitats diferentes.

CONCEPTOS Y UNIDADES EN LA MEDIDA DE LA LUZ

En la caracterización de la luz hay tres parámetros que son especialmente importantes: (1) la calidad espectral, (2) la cantidad y (3) la dirección. La calidad espectral se analizó en el capítulo 7 (véanse las figuras 7.1 y 7.2 y el **tema web 7.1**). En un análisis sobre la cantidad y la dirección con la que la luz alcanza la planta es necesario considerar la geometría de la parte de la planta que recibe la luz. ¿Es la planta un órgano plano o cilíndrico?

Los sensores de luz planos se adaptan mejor a las hojas planas. La luz que alcanza la planta puede ser medida como energía, y la cantidad de energía que incide sobre un sensor plano por unidad de área y unidad de tiempo se denomina **irradiancia** (véase la tabla 9.2). Las unidades se pueden expresar en términos de energía, como vatio por metro cuadrado ($W\ m^{-2}$). El tiempo (en segundos) está incluido en el término de vatio: $1\ W = 1$ Julio (J) s^{-1}.

La luz puede medirse como el número de **cuantos** incidentes. En este caso, las unidades en que se expresa son moles por metro cuadrado por segundo ($mol\ m^{-2}\ s^{-1}$), donde los *moles* se refieren al número de fotones (1 mol de luz = $6{,}02 \times 10^{23}$ fotones, el número de Avogadro). Esta medida se denomina **irradiancia fotónica**. Las unidades de cuantos y de energía pueden interconvertirse de forma relativamente sencilla, si la longitud de onda de la luz, λ, es conocida. La energía de un fotón está relacionada con su longitud de onda de acuerdo con la expresión:

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

TABLA 9.2
Conceptos y unidades en la cuantificación de la luz

	Medidas de energía ($W\ m^{-2}$)	Medidas de fotón ($mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)
Sensor de luz plano	Irradiancia	Irradiancia fotónica
	Radiación fotosintéticamente activa (PAR, 400-700 nm, unidades de energía)	PAR (unidades cuánticas)
	—	Densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD)
Sensor de luz esférico	Tasa de fluencia (unidades de energía)	Tasa de fluencia (unidades cuánticas)
	Irradiancia escalar	Irradiancia escalar cuántica

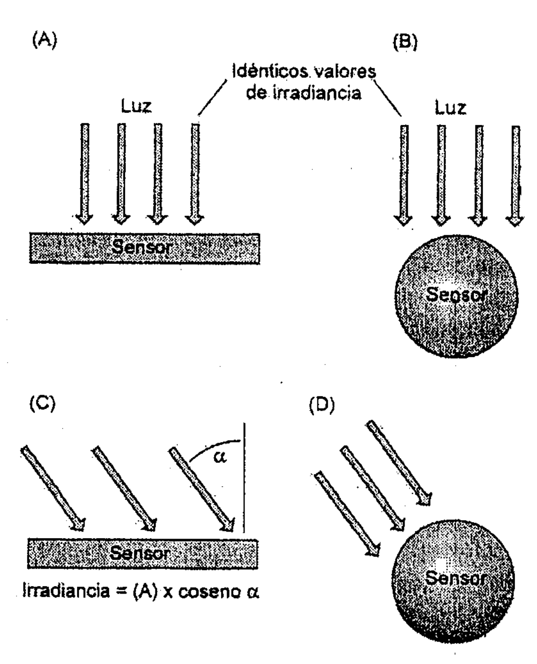


Figura 9.1 Sensores de luz planos y esféricos. Cantidades equivalentes de luz colimada inciden sobre un sensor plano (A) y un sensor esférico (B) que miden la tasa de fluencia. Con haces de luz colimada, A y B darán las mismas lecturas de luz. Si la dirección se cambia 45°, el sensor esférico (D) medirá la misma cantidad que en B. Por el contrario, la irradiancia del sensor plano (C) medirá una cantidad equivalente a la irradiancia en A multiplicada por el coseno del ángulo α en C. (Según Björn y Vogelmann 1994).

donde c es la velocidad de la luz (3×10^8 m s^{-1}), h es la constante de Planck ($6{,}63 \times 10^{-34}$ J s) y λ es la longitud de onda de la luz, normalmente expresada en nm (1 nm = 10^{-9} m). A partir de esta ecuación se puede demostrar que un fotón de 400 nm tiene una energía doble que un fotón de 800 nm (véase el **tema web 9.1**).

Centremos nuestra atención ahora en la dirección de la luz. La luz puede incidir perpendicular u oblicuamente sobre una superficie. Cuando la luz se desvía de la perpendicular, la irradiancia es proporcional al coseno del ángulo que forma la luz incidente con el sensor (Figura 9.1).

Hay muchos ejemplos en la naturaleza de estructuras que captan luz que no son planas (por ejemplo, tallos complejos, plantas completas, cloroplastos). Además, en ciertas situaciones la luz puede proceder de muchas direcciones simultáneamente (por ejemplo, luz directa del sol además de luz reflejada por arena, por tierra o por nieve). En estas situaciones la medida de la luz es más sensible utilizando un sensor esférico que toma medidas desde todas las direcciones.

El término para esta medida en todas las direcciones es **la tasa de fluencia** (véase la tabla 9.2) (Rupert y Letarjet 1978) y esta cantidad se expresa en vatios por metro cuadrado (W m^{-2}) o en moles por metro cuadrado por segundo (mol m^{-2} s^{-1}). Las unidades indican claramente si la luz es medida como energía (W) o como fotones (mol).

A diferencia de la sensibilidad de un sensor plano, la sensibilidad de un sensor esférico a la luz es independiente de la dirección (véase la figura 9.1). Dependiendo de si la luz es colimada (rayos paralelos) o difusa (los rayos viajan al azar en todas direcciones), los valores de la tasa de fluencia medidos con un sensor plano o esférico pueden ser diferentes (véase la figura 9.1) (para un análisis más detallado, véase Björn y Vogelmann 1994).

La **radiación fotosintéticamente activa** (**PAR,** 400-700 nm) se puede expresar en términos de energía (W m^{-2}) o de cuantos (mol m^{-2} s^{-1}) (McCree 1981). Obsérvese que el PAR es una medida del tipo de irradiancia. En los estudios sobre la fotosíntesis, cuando el PAR se expresa en unidades cuánticas, recibe el nombre especial de **densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD)**. Sin embargo, se ha sugerido que el término *densidad* no es adecuado porque no es compatible con las unidades del Sistema Internacional de Unidades (unidades SI, donde *SI* se refiere al *Système Internacional*), ya que *densidad* puede referirse a área o volumen.

En resumen, cuando elegimos cómo cuantificar la luz, es importante acoplar la geometría del sensor y la respuesta espectral con la de la planta. Los sensores planos se acoplan perfectamente con la medida de la cantidad de luz que incide sobre la superficie de la hoja; los sensores esféricos son más apropiados en otras situaciones, como en los estudios de suspensiones de cloroplastos o en ramas de los árboles (véase la tabla 9.2).

¿Cuánta luz hay en un día soleado? y ¿qué relación hay entre la irradiancia PAR y la tasa de fluencia PAR? Bajo la luz directa del sol, la irradiancia PAR y la tasa de fluencia son de unos 2000 µmol m^{-2} s^{-1}, aunque se han medido valores más altos en altitudes elevadas. El valor correspondiente en unidades de energía es de 400 W m^{-2}.

La anatomía de la hoja maximiza la absorción de luz

Cerca de 1,3 kW m^{-2} de la energía radiante del sol alcanza la Tierra, aunque sólo un 5% de esta energía luminosa puede ser convertida en carbohidratos por la fotosíntesis en la hoja (Figura 9.2). La razón de este bajo porcentaje es que la mayor parte de la luz incidente es de una longitud de onda demasiado corta o demasiado larga para ser absorbida por los pigmentos fotosintéticos (véase la figura 7.3). Además, una parte significativa de la energía absorbida se pierde como calor y otra pequeña cantidad se pierde como fluorescencia (véase el capítulo 7).

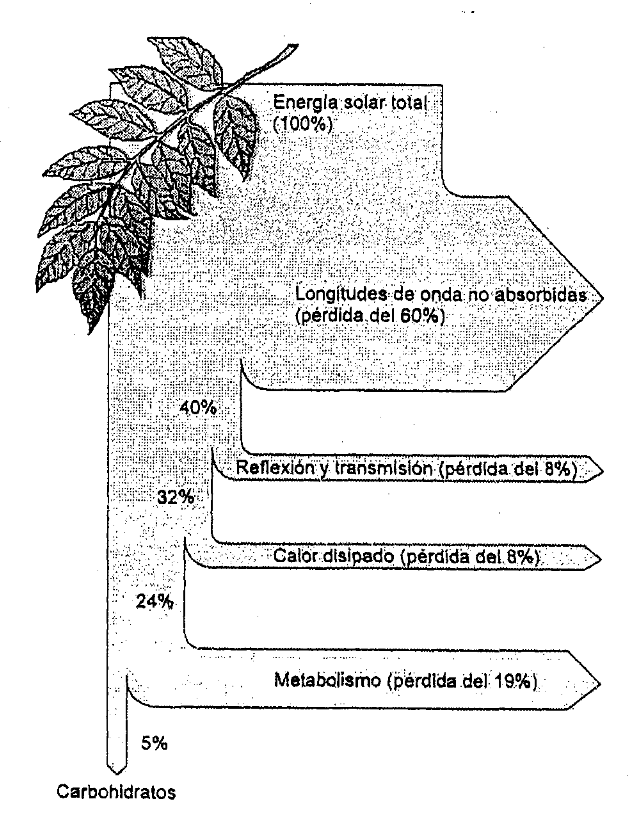


Figura 9.2 Conversión de la energía solar en carbohidratos en una hoja. De la energía total incidente, sólo el 5% es convertida en carbohidratos.

Recordemos del capítulo 7 que la energía radiante del sol consta de muchas longitudes de onda diferentes. Sólo los fotones de longitudes de onda comprendidas entre 400 y 700 nm son empleados en la fotosíntesis, y entre el 85 y el 90% de éste PAR es absorbido por los pigmentos fotosintéticos; el resto es reflejado por la superficie de la hoja o transmitido a través de ella (Figura 9.3). Como la clorofila absorbe intensamente en las regiones del rojo y del azul del espectro (Figura 7.3), la luz transmitida y la luz reflejada están enriquecidas en el verde, de ahí el color verde de la vegetación.

La anatomía de las hojas está altamente especializada para la absorción de luz (Terashima y Hikosaka 1995). La capa de células más externa, la epidermis, es transparente a la luz visible. Las células epidérmicas, normalmente convexas, actúan como lentes y pueden concentrar la luz, de forma que la cantidad que alcanza algunos cloroplastos puede ser muy superior a la cantidad de luz del entorno (Vogelmann y

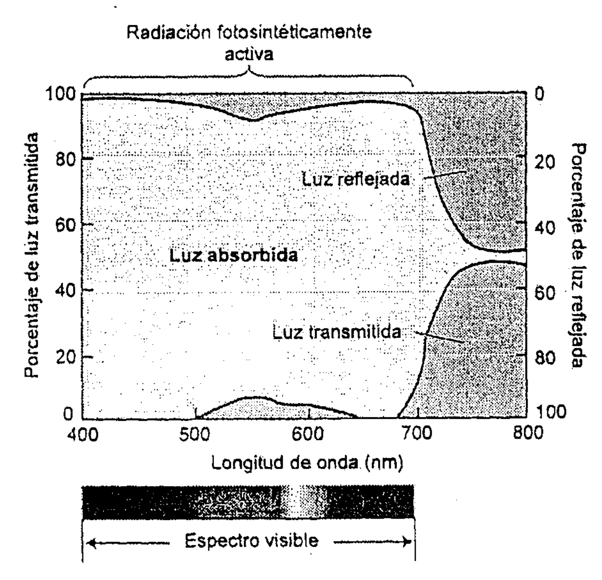


Figura 9.3 Propiedades ópticas de una hoja de judía. Se muestran aquí los porcentajes de luz absorbida, reflejada y transmitida en función de la longitud de onda. La luz del verde transmitida y reflejada en la banda de 500 a 600 nm confiere a las hojas su color verde. Obsérvese que la mayor parte de la luz por encima de los 700 nm no es absorbida por la hoja. (Según Smith 1986).

col. 1996). Esta concentración epidérmica es común entre las plantas herbáceas y es especialmente destacable entre las plantas tropicales que crecen en el bosque profundo, donde los niveles de luz son bajos.

Bajo la epidermis, las capas superiores de las células fotosintéticas se denominan **células en empalizada**, que están apiladas formando columnas paralelas de 1 a 3 capas de grosor (Figura 9.4). Algunas hojas tienen varias capas de células en empalizada y nos puede sorprender el gasto energético necesario para generar esta estructura cuando el alto contenido en clorofilas de la primera capa parecería permitir una pequeña transmisión de la luz incidente al interior de la hoja. De hecho, a través de la primera capa de células en empalizada se transmite más luz de lo esperado, debido al efecto colador y a la canalización de la luz.

El **efecto colador** es debido a que la clorofila no está uniformemente distribuida en las células, sino que está confinada en los cloroplastos. Esta agrupación de la clorofila provoca sombreo entre las moléculas de clorofila, y crea espacios entre los cloroplastos, donde la luz no es absorbida, de ahí la referencia a un colador. Debido al efecto colador, la absorción total de luz por una cantidad dada de clorofila en una célula en empalizada es menor que la luz absorbida por la misma cantidad de clorofila en solución.

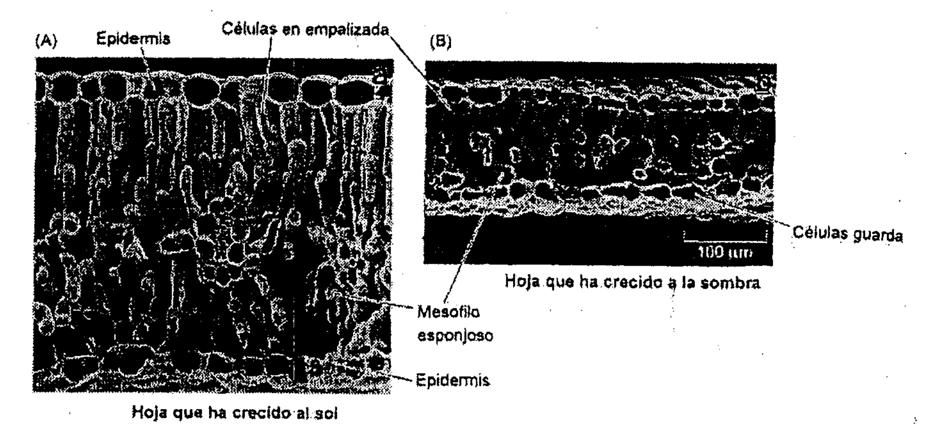


Figura 9.4 Micrografías electrónicas de barrido de la anatomía de una hoja de leguminosa (*Thermpsis montana*) que ha crecido en diferentes ambientes de luz. Nótese que la hoja de sol (A) es más gruesa que la hoja de sombra (B), y las células en empalizada (en columnas) son mucho más largas en las hojas que han crecido al sol. Las capas de células del mesofilo esponjoso se pueden ver por debajo de las células en empalizada. (Micrografías cortesía de T. Vogelmann).

La **canalización de la luz** se produce cuando parte de la luz incidente se propaga a través de la vacuola central de las células en empalizada y a través de los espacios aéreos entre las células, una disposición que facilita la transmisión de parte de la luz al interior de la hoja (Vogelmann 1993).

Bajo las capas en empalizada se encuentra el **parénquima lagunar o mesofilo esponjoso,** con células de forma irregular y rodeada de grandes espacios aéreos (véase la figura 9.4). Los grandes espacios aéreos generan muchas interfases entre el aire y el agua que reflejan y refractan la luz, provocando que su dirección de transmisión sea al azar. Este fenómeno se denomina *dispersión de la luz.*

La dispersión de la luz es especialmente importante en las hojas debido a que las múltiples reflexiones entre las interfases célula-aire aumentan muchísimo la longitud de la ruta de los fotones, aumentando así la probabilidad de absorción. De hecho, la longitud de la ruta de un fotón en una hoja normalmente suele ser de cuatro veces o más el grosor de la hoja (Ritcher y Fukshansky 1996). Así la propiedad de las células en empalizada de permitir que la luz las atraviese y la propiedad de las células del mesofilo esponjoso de favorecer la dispersión de la luz, provocan una absorción de la luz más uniforme en toda la hoja.

En algunos ambientes, como los desiertos, la elevada radiación resulta potencialmente dañina para las hojas. En estos ambientes las hojas suelen tener unas características anatómicas especiales, como pelos, glándulas salinas y cutícula de cera, que aumentan la reflexión de la luz en la superficie de la hoja, reduciendo, por tanto, la absorción de la luz (Ehleringer y col. 1976). Estas adaptaciones pueden reducir la absorción de luz en más de un 40%, minimizando el calentamiento y otros problemas asociados a una excesiva absorción de luz.

El movimiento de los cloroplastos y el movimiento de la hoja pueden controlar la absorción de luz

El movimiento de los cloroplastos está muy extendido entre algas, musgos y hojas de plantas superiores (Haupt y Scheuerlein 1990). Si se controla la orientación y localización de los cloroplastos, las hojas pueden regular la cantidad de luz absorbida. En condiciones de luz de baja intensidad (Figura 9.5B), los cloroplastos se disponen en las superficies celulares paralelas al plano de la hoja y perpendiculares a la luz incidente, una posición que maximiza la absorción de luz.

En condiciones de luz intensa (Figura 9.5C), los cloroplastos se mueven hacia las superficies celulares paralelas a la luz incidente, evitando el exceso de absorción de luz. Estos reordenamientos de los cloroplastos pueden disminuir en un 15% la cantidad de luz absorbida por la hoja (Gorton y col. 1999). El movimiento de los cloroplastos en las hojas es una respuesta típica a la luz del azul (véase el capítulo 18). La luz del azul también controla la orientación de los cloroplastos en muchas plantas inferiores, pero en algunas algas, el movimiento de los cloroplastos está controlado por el fitocromo (Haupt y Scheuerlein 1990). En las hojas, los cloroplastos se mueven asociados a microfilamentos de actina en el citoplasma, y el calcio regula su movimiento (Tlalka y Fricker 1999).

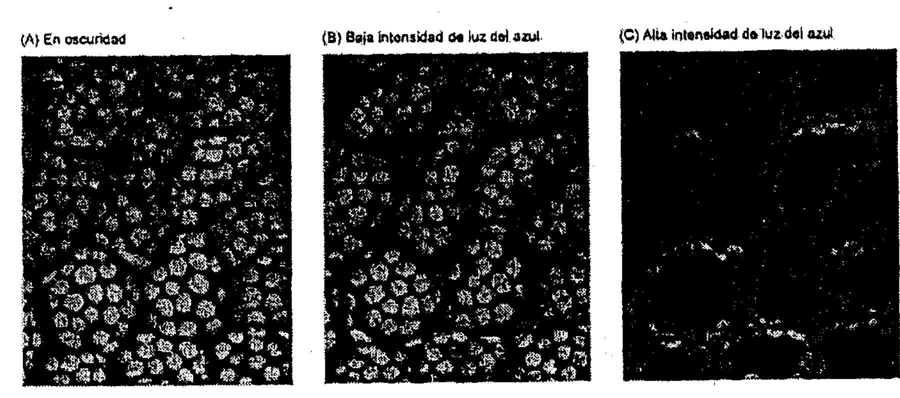


Figura 9.5 Distribución de cloroplastos en células fotosintéticas de *Lemna* (lenteja de agua). Las vistas superficiales muestran las mismas células en tres condiciones: (A) en oscuridad, (B) con luz del azul a baja intensidad y (C) con luz del azul a alta intensidad. En A y en B los cloroplastos se encuentran cerca de la superficie de las células, donde pueden absorber la máxima cantidad de luz. Cuando las células son irradiadas con luz del azul intensa (C) los cloroplastos se mueven a los lados de las paredes, donde se hacen sombra entre sí, minimizando la absorción de luz en exceso. (Micrografías cortesía de M. Tlalka y M. D. Fricker).

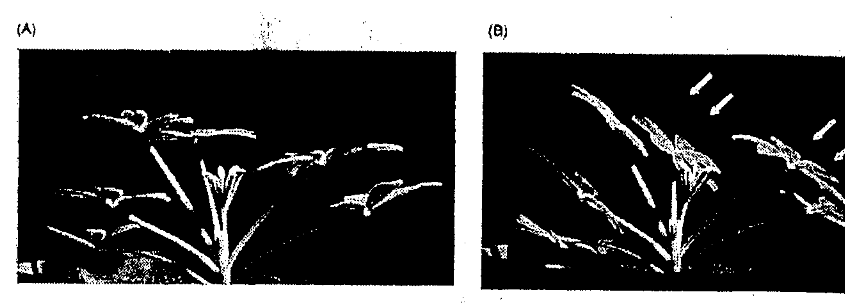


Figura 9.6 Movimiento de las hojas por seguimiento solar. (A) Orientación inicial de hojas de *Lupine succulentus* (altramuz). (B) Orientación de la hoja tras 4 horas de exposición a luz oblicua. La dirección del rayo de luz viene indicada por las flechas. El movimiento se produce por el hinchamiento del pulvínulo, que se encuentra en la unión entre la lámina foliar y el pecíolo. En condiciones naturales, las hojas siguen la trayectoria del sol en el cielo. (Según Vogelmann y Björn 1983, cortesía de T. Vogelmann).

Las hojas absorben las mayores cantidades de radiación cuando el limbo (o lámina) de la hoja es perpendicular a la luz incidente. Algunas plantas controlan la absorción de la luz por **seguimiento solar** (Koller 2000); es decir, sus hojas ajustan continuamente la orientación de sus limbos para que permanezcan perpendiculares a los rayos del sol (Figura 9.6). La alfalfa, el algodón, la soja, la judía, el altramuz y algunas especies silvestres de la familia de la malva (Malvaceae) son ejemplos de las numerosas especies vegetales capaces de orientar sus hojas al sol.

Las hojas con seguimiento solar mantienen una posición casi vertical a la salida del sol, de cara al este, donde el sol se está elevando. Los limbos de las hojas giran hacia el sol y siguen su movimiento por el cielo con una precisión de ±15° hasta la puesta del sol, cuando las láminas foliares quedan prácticamente verticales, de cara al oeste, donde se pone el sol. Durante la noche, la hoja adopta una posición horizontal y se reorienta justo antes de la madrugada de cara al este, anticipándose a la nueva salida del sol. Las hojas realizan el seguimiento solar sólo en días claros, y lo detienen cuando una nube tapa el sol. En el caso de estar cubierto intermitentemente por nubes, algunas hojas pueden reorientarse muy rápidamente, hasta 90° por hora, para poder captar la nueva posición solar cuando el sol reaparece tras una nube (Koller 1990).

El seguimiento solar es otra respuesta a la luz del azul y la absorción de la luz del azul en hojas con esta respuesta se produce en regiones especializadas. En especies de *Lavatera* (Malvaceae), la región fotosensible se encuentra en o cerca de las venas principales de la hoja (Koller 1990). En altramuz (*Lupinus*, Fabaceae), las hojas constan de cinco o más foliolos, y la región fotosensible está localizada en la parte basal de la lámina de cada foliolos.

En muchos casos, la orientación de la hoja está controlada por un órgano especializado denominado **pulvínulo**, que se encuentra en la unión entre el limbo y el pecíolo de la hoja. El pulvínulo tiene células motoras que cambian su potencial osmótico y generan fuerzas mecánicas que determinan la orientación del limbo. En otras plantas, la orientación de la hoja está controlada por pequeños cambios mecánicos a lo largo del pecíolo y por movimientos de las partes más jóvenes del tallo.

Algunas plantas con seguimiento solar también pueden mover sus hojas evitando la exposición total a la luz solar, minimizando el calentamiento y la pérdida de agua. Basado en el término **heliotropismo** (movimiento hacia el sol), empleado con frecuencia para describir movimientos de las hojas inducidos por el sol, estas hojas que evitan el sol se denominan *paraheliotrópicas*, y las hojas que maximizan la captación de luz por seguimiento solar se las denomina *diaheliotrópicas*. Algunas especies vegetales pueden presentar movimientos diaheliotrópicos cuando disponen de agua suficiente y movimientos paraheliotrópicos cuando están sometidas a un estrés hídrico.

Dado que la luz total del sol excede a la cantidad de luz que puede ser utilizada para la fotosíntesis, ¿qué ventaja supone el seguimiento solar? Al mantener las hojas perpendiculares al sol, las plantas con seguimiento solar mantienen tasas fotosintéticas máximas durante todo el día, incluidas las primeras horas de la mañana y el final de la tarde. Más aún, la temperatura del aire es inferior durante las primeras horas de la mañana y las últimas de la tarde, por lo que se reduce el estrés hídrico. Por lo tanto, el seguimiento solar proporciona una ventaja a las plantas que crecen en regiones áridas.

Plantas adaptadas al sol y a la sombra

Algunas plantas poseen la suficiente plasticidad como para adaptarse a un amplio rango de regímenes de luz, creciendo como las plantas de sol en áreas soleadas o como plantas de sombra en hábitats sombríos. Algunos hábitats sombríos reciben menos de un 1% del PAR disponible en un hábitat expuesto. Las hojas que se han adaptado bien a ambientes muy soleados, bien a ambientes muy sombríos, con frecuencia, son incapaces de sobrevivir en otro tipo de hábitat (véase la figura 9.10). Las hojas de sol y de sombra tienen características distintas:

- Las *hojas de sombra* tienen una mayor proporción de clorofilas totales por centro de reacción, una alta relación de clorofila *b* respecto a la clorofila *a* y normalmente son más finas que las hojas de sol.
- Las *hojas de sol* tienen más rubisco y una mayor concentración de los componentes del ciclo de las xantofilas que las plantas de sombra (véase el capítulo 7).

Se pueden encontrar diferentes características morfológicas en las hojas de una misma planta expuestas a distintos regímenes de luz. La figura 9.4 muestra algunas

diferencias anatómicas entre una hoja que ha crecido al sol y otra que ha crecido a la sombra. Las hojas que han crecido al sol son más gruesas y tienen células en empalizada más largas que las células que han crecido a la sombra. Incluso partes diferentes de una misma hoja muestran diferentes adaptaciones a su entorno luminoso. Las células de la superficie superior de una hoja están expuestas a flujos fotónicos mayores, presentando características de las células de hojas que han crecido al sol; las células de la superficie inferior de la hoja tienen las características encontradas en hojas de sombra (Terashima 1992).

Estas modificaciones morfológicas y bioquímicas están asociadas a funciones específicas. La luz del rojo lejano es absorbida principalmente por el PSI y, alterando la relación entre el PSI y el PSII o cambiando las antenas de captación de la luz asociadas a los fotosistemas, se consigue mantener un mejor equilibrio de flujo de energía entre los dos fotosistemas (Melis 1996). Estas adaptaciones se encuentran en la naturaleza; algunas plantas de sombra muestran una relación de 3:1 de los centros de reacción del fotosistema II respecto a los del fotosistema I, comparando con la relación 2:1 encontrada en plantas de sol (Anderson 1986). Otras plantas de sombra, más que alterar la relación entre el PSI y el PSII, añaden más clorofilas antena al PSII. Estas adaptaciones parecen aumentar la absorción de luz y la transferencia energética en ambientes sombríos, donde la luz del rojo lejano es más abundante.

Las plantas de sol y de sombra también difieren en las tasas de respiración, y estas diferencias alteran la relación entre la respiración y la fotosíntesis, como veremos más adelante en este capítulo.

Las plantas compiten por la luz del sol

Las plantas normalmente compiten por la luz del sol. Sostenidas en la parte de superior de tallos y troncos, las hojas forman una copa que absorbe la luz e influye en la tasa fotosintética y en el crecimiento bajo ella.

Las hojas que están a la sombra de otras hojas muestran tasas fotosintéticas menores. Algunas plantas tienen hojas muy gruesas que no transmiten luz, o muy poca. Estas plantas, como el diente de león (*Taraxacum* sp.), suelen presentar un crecimiento en roseta, en el cual las hojas crecen radialmente, muy cerca unas de otras, evitando así el crecimiento de cualquier hoja debajo de ellas.

Los árboles representan la mayor adaptación para la captación de luz. La estructura elaborada y ramificada de los árboles incrementa enormemente la captación de la luz solar. Por la cubierta de la mayoría de bosques penetra muy poco PAR; casi toda la radiación es absorbida por las hojas (Figura 9.7).

Otra característica de los hábitats sombríos son los llamados **puntos de luz**, manchas de radiación solar que pasan a través de huecos en la cubierta vegetal y se mueven a lo largo de las hojas de sombra a medida que el sol se mueve. En un bosque denso, los puntos de luz pueden variar el flujo fotónico que incide sobre una hoja en la parte inferior del bosque más de 10 veces en pocos segundos. En algunas de estas hojas, un punto de luz proporciona casi el 50% de la energía disponible durante un día, pero está energía crítica está disponible sólo durante unos pocos minutos en una dosis muy alta.

Los puntos de luz juegan un papel importante en el metabolismo del carbono de las hojas más bajas en cultivos densos, que están a la sombra de las hojas superiores. La rápida respuesta del aparato fotosintético y de los estomas a los puntos de luz ha sido de gran interés para ecologistas y fisiólogos vegetales (Pearcy y col. 1997) porque representa una respuesta fisiológica singular especializada en la captura de pequeñas destellos de luz del sol.

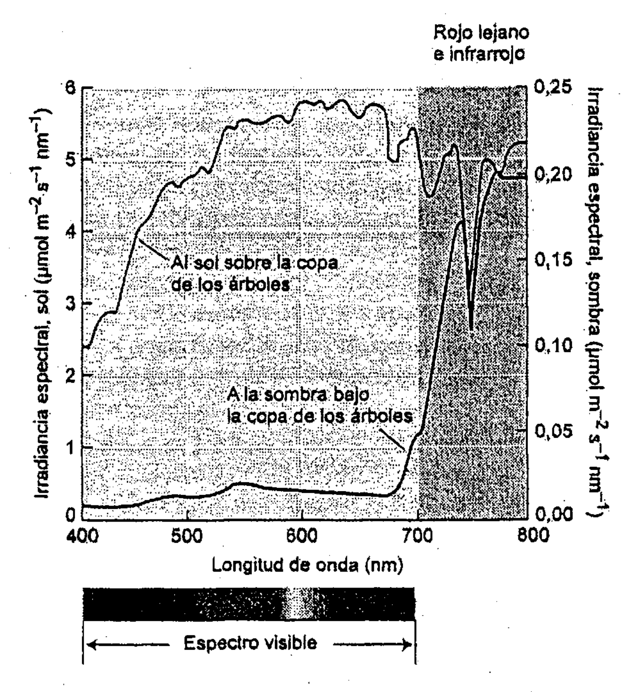


Figura 9.7 Espectro de distribución de la luz del sol por encima y por debajo de la cubierta vegetal. La irradiancia total de la luz del sol no filtrada fue de 1900 μmol m^{-2} s^{-1}; para la sombra, 17,7 μmol m^{-2} s^{-1}. La mayor parte de la radiación fotosintéticamente activa fue absorbida por las hojas de la cubierta vegetal. (Según Smith 1994).

LAS RESPUESTAS FOTOSINTÉTICAS A LA LUZ EN LAS HOJAS INTACTAS

La luz es un recurso crítico para las plantas que, con frecuencia, limita su crecimiento y reproducción. Las propiedades fotosintéticas de la hoja proporcionan una información valiosa sobre las adaptaciones vegetales a la luz de su entorno.

En esta sección describiremos las respuestas fotosintéticas típicas a través de las curvas de respuesta a la luz. Una característica importante de las curvas de respuesta a la luz es el punto de compensación de la luz, que explica las diferentes propiedades fisiológicas de las plantas de sol y de sombra. Describiremos entonces el rendimiento cuántico en una hoja intacta y las diferencias en los rendimientos cuánticos entre las plantas C_3 y C_4. La sección termina con una descripción de las adaptaciones al exceso de la luz y las diferentes rutas de disipación del calor en la hoja.

Las curvas de respuesta a la luz revelan propiedades fotosintéticas

La cuantificación de la fijación del dióxido de carbono en hojas intactas a flujos fotónicos crecientes permite la elaboración de curvas de respuesta a la luz (Figura 9.8), que proporcionan mucha información sobre las propiedades fotosintéticas de las hojas. En oscuridad, no hay asimilación fotosintética de carbono y la planta libera CO_2 como consecuencia de la respiración (véase el capítulo 11). Por convenio, la asimilación del CO_2 en esta parte de la curva de respuesta a la luz es negativa. A medida que el flujo fotónico aumenta, la asimilación fotosintética neta del CO_2 se incrementa hasta que se iguala con el CO_2 liberado por la respiración mitocondrial. El punto en el cual la incorporación de CO_2 es igual a la liberación de CO_2 se denomina **punto de compensación de la luz.**

El flujo fotónico con el cual las hojas alcanzan el punto de compensación de la luz depende de las especies y de las condiciones de desarrollo. Una de las principales diferencias se encuentra entre las plantas que crecen totalmente expuestas a la luz y las plantas que crecen a la sombra (Figura 9.9). El punto de compensación de la luz de las plantas de sol está en el rango de 10-20 µmol m^{-2} s^{-1}, mientras que los valores correspondientes para las plantas de sombra oscilan entre 1-5 µmol m^{-2} s^{-1}.

Los valores para plantas de sombra son muy bajos debido a que la tasa respiratoria en estas plantas también es muy baja, por lo que niveles muy bajos de fotosíntesis son suficientes para hacer cero el intercambio neto de CO_2. Las tasas respiratorias bajas parecen representar una adaptación básica que permite a las plantas de sombra sobrevivir en ambientes con limitaciones de luz.

El aumento en el flujo fotónico sobre el punto de compensación de la luz implica un aumento proporcional de la tasa fotosintética (véase la figura 9.8), con una relación lineal entre la tasa fotosintética y el flujo fotónico. Esta relación lineal se produce debido a que *luz* a esos niveles de luz incidente la fotosíntesis está *limitada por la luz*, de forma que más luz estimula una mayor fotosíntesis.

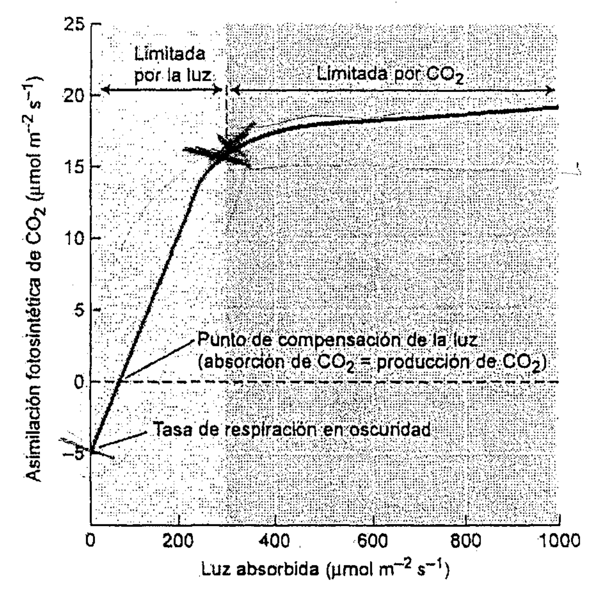


Figura 9.8 Respuesta de la fotosíntesis a la luz en plantas C_3. En oscuridad, la respiración produce un flujo neto de CO_2 desde la planta. Se alcanza el punto de compensación de la luz cuando la asimilación fotosintética de CO_2 iguala la cantidad de CO_2 producido en la respiración. Un aumento de la irradiancia por encima del punto de compensación de la luz aumenta la fotosíntesis proporcionalmente, indicando que la fotosíntesis está limitada por la tasa de transporte electrónico que, de hecho, está limitada por la cantidad de luz disponible. Esta parte de la curva se considera que está limitada por la luz. Los aumentos posteriores de la fotosíntesis están limitados por la capacidad de carboxilación de la rubisco o el metabolismo de las triosas fosfato. Esta parte de la curva se considera que está limitada por CO_2.

En esta parte lineal de la curva, la pendiente de la recta representa el **rendimiento cuántico máximo** de la fotosíntesis para la hoja. Recordemos que el rendimiento cuántico es la relación entre la formación de un producto dado dependiente de la luz (en este caso asimilación de CO_2) y el número de fotones absorbidos (véase la ecuación 7.5).

El rendimiento cuántico oscila entre 0, cuando no se utiliza energía luminosa para la fotosíntesis, y 1, cuando se emplea toda la luz absorbida. Recordemos del capítulo 7 que el rendimiento cuántico fotoquímico es de 0,95, y el rendimiento cuántico de la generación de oxígeno por cloroplastos aislados es de 0,1 (10 fotones por molécula de O_2).

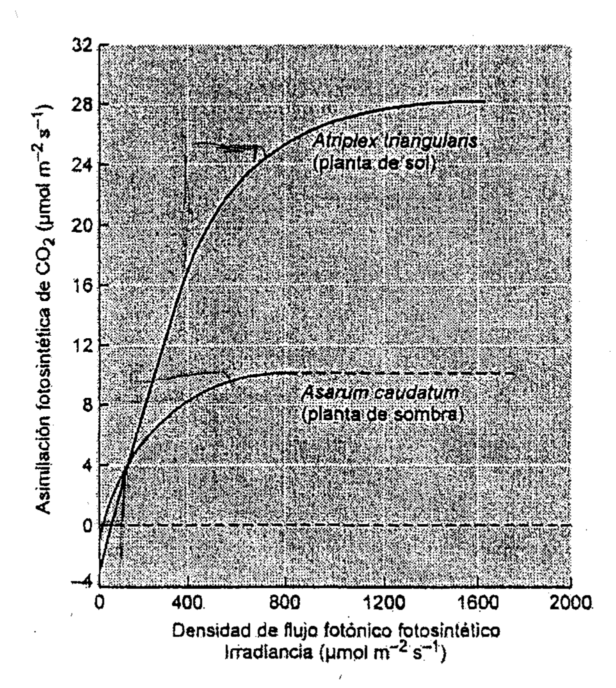


Figura 9.9 Curvas de respuesta a la luz de la fijación fotosintética de carbono en plantas de sol y de sombra. *Atriplex triangularis* es una planta de sol y *Asarum caudatum* es una planta de sombra. Normalmente, las plantas de sombra tienen un punto de compensación de la luz bajo y tasas fotosintéticas máximas menores que las plantas de sol. Las líneas discontinuas corresponden a una extrapolación a partir de las medidas de la curva. (Según Harvey 1979).

En hojas intactas, los valores de rendimiento cuántico para la fijación de CO_2 varían entre 0,04 y 0,06. Las hojas de muchas especies de plantas C_3, que se mantienen a bajas concentraciones de oxígeno para inhibir la fotorrespiración, suelen mostrar un rendimiento cuántico de 0,1. A concentraciones normales de aire, el valor típico del rendimiento cuántico de plantas C_3 es menor, normalmente de 0,05.

El rendimiento cuántico depende de la temperatura y la concentración de CO_2, debido a sus efectos sobre la actividad carboxilasa y oxigenasa de la rubisco (véase el capítulo 8). Por debajo de 30°C, el rendimiento cuántico de las plantas C_3 es generalmente más alto que el de plantas C_4; por encima de 30°C, la situación se invierte (véase la figura 9.23). A pesar de su diferente hábitat de crecimiento, las plantas de sol y de sombra muestran valores similares de rendimiento cuántico.

A flujos fotónicos mayores, la respuesta fotosintética a la luz comienza a estabilizarse (véase la figura 9.8) y se alcanza la *saturación*. Una vez se alcanza el punto de saturación, un aumento del flujo fotónico no afecta a la tasa fotosintética, indi-

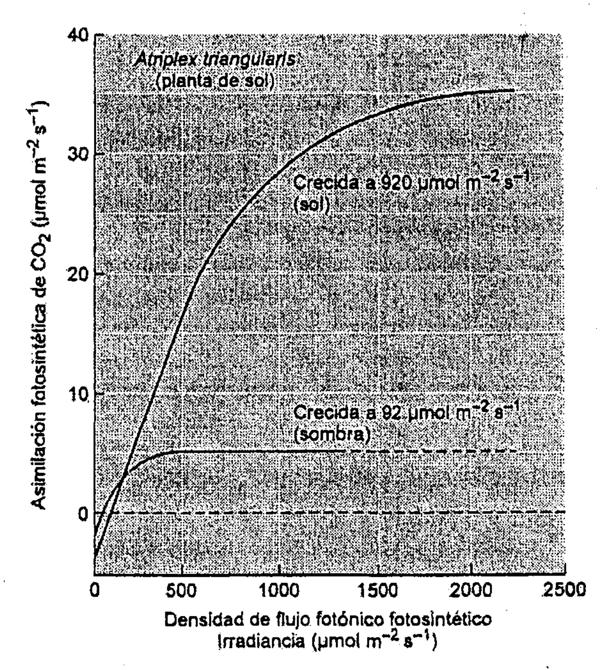


Figura 9.10 Respuesta de la fotosíntesis a la luz de una planta de sol que ha crecido en condiciones de sol o de sombra. La curva superior representa una hoja de *Atriplex triangularis* que ha crecido a una irradiancia diez veces mayor que la de la curva inferior. En una hoja que ha crecido a niveles de luz más bajos, la fotosíntesis se satura a una irradiancia claramente menor, indicando que las propiedades fotosintéticas de una hoja dependen de sus condiciones de crecimiento. Las líneas discontinuas corresponden a una extrapolación a partir de las medidas de la curva. (Según Bjorkman 1981).

cando que hay otros factores adicionales, como el transporte electrónico, la actividad de la rubisco o el metabolismo de las triosas fosfato, que se convierten en limitantes para la fotosíntesis.

Por encima del punto de saturación, se suele decir que la fotosíntesis está *limitada por CO_2*, reflejando la incapacidad de los enzimas del ciclo de Calvin de mantener el ritmo de actividad con la energía luminosa absorbida. Los niveles de saturación de luz para plantas de sombra son significativamente más bajos que los de plantas de sol (véase la figura 9.9). Estos niveles suelen reflejar los flujos fotónicos máximos a los que han sido expuestas las hojas durante su crecimiento (Figura 9.10).

La curva de respuesta a la luz de la mayoría de las hojas se satura entre 500 y 1000 μmol m^{-2} s^{-1}, a flujos fotónicos inferiores a los de la radiación solar máxima (que está alrededor de los 2000 μmol m^{-2} s^{-1}). Aunque individualmente las hojas rara vez son capaces de utilizar por completo la luz solar, las plantas poseen una estructura tal que unas hojas hacen sombra a otras. Por ejemplo, sólo una pequeña parte de las

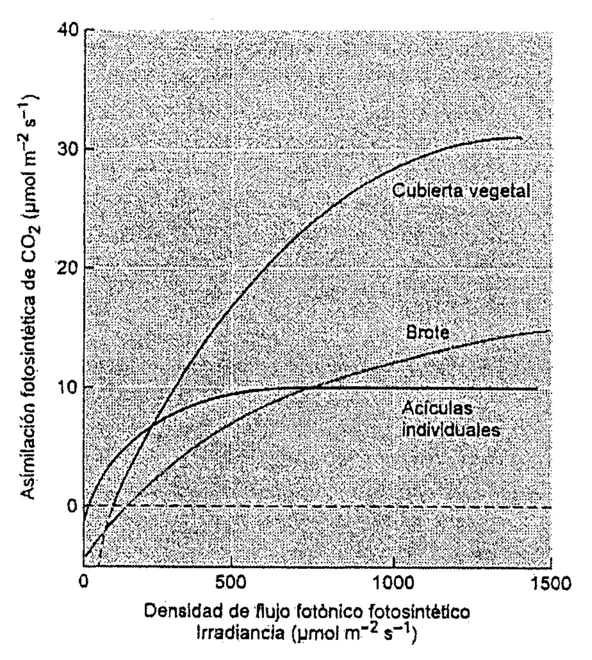


Figura 9.11 Cambios en la fotosíntesis (expresados por metro cuadrado) por acícula, por brote y por cubierta vegetal de picea Sitka (*Picea sitchensis*) en función de la irradiancia. El brote está compuesto por agrupaciones de acículas que, con frecuencia, se hacen sombras unas a otras, de forma similar a la situación de una cubierta vegetal, donde unas ramas hacen sombra a otras. Como consecuencia de la sombra, se necesitan niveles muy superiores de irradiancia para saturar la fotosíntesis. Las líneas discontinuas corresponden a una extrapolación a partir de las medidas de la curva. (Según Jarvis y Leverenz 1983).

hojas de un árbol está expuesta completamente al sol durante todo el día. El resto de las hojas recibe flujos fotónicos por debajo del nivel de saturación, en forma de pequeños puntos de luz que pasan a través de los huecos de la cubierta vegetal o en forma de luz transmitida a través de otras hojas. Como la respuesta fotosintética de la planta completa es la suma de las actividades fotosintéticas de todas las hojas, es poco frecuente que la fotosíntesis se sature a nivel de planta entera.

Las curvas de respuesta a la luz de árboles individuales y de la cubierta vegetal muestran que las tasas fotosintéticas aumentan con el flujo fotónico y que la fotosíntesis normalmente no se satura, ni siquiera a plena luz del sol (Figura 9.11). Siguiendo esta línea, la productividad de los cultivos está relacionada con la cantidad de luz recibida durante el periodo de crecimiento y con un aporte suficiente de agua y nutrientes, de modo que a mayor cantidad de luz que recibe un cultivo, mayor será su biomasa (Ort y Baker 1988).

Las hojas deben disipar el exceso de energía luminosa

Cuando las hojas están expuestas a un exceso de luz, han de disipar el exceso de energía luminosa absorbida para evitar daños en el aparato fotosintético (Figura 9.12). Existen varias rutas de disipación de esta energía, incluyendo la atenuación *no fotoquímica* (véase el capítulo 7), que es la atenuación de la fluorescencia de la clorofila por mecanismos diferentes al fotoquímico. El ejemplo más importante implica la transferencia del exceso de energía luminosa absorbida desde la cadena de transporte electrónico para la producción de calor. Aunque no se conocen bien los mecanismos moleculares, el ciclo de las xantofilas parece ser una vía importante para disipar el exceso de energía luminosa (véase el **ensayo web 9.1**).

El ciclo de las xantofilas. Recordemos del capítulo 7 que el ciclo de las xantofilas, que implica los tres carotenoides violaxantina, anteraxantina y zeaxantina, está implicado en la disipación del exceso de energía luminosa en la hoja (véase la figura 7.36). En condiciones de luz intensa, la violaxantina se convierte en anteraxantina y ésta en zeaxantina. Obsérvese que los dos anillos aromáticos de la violaxantina

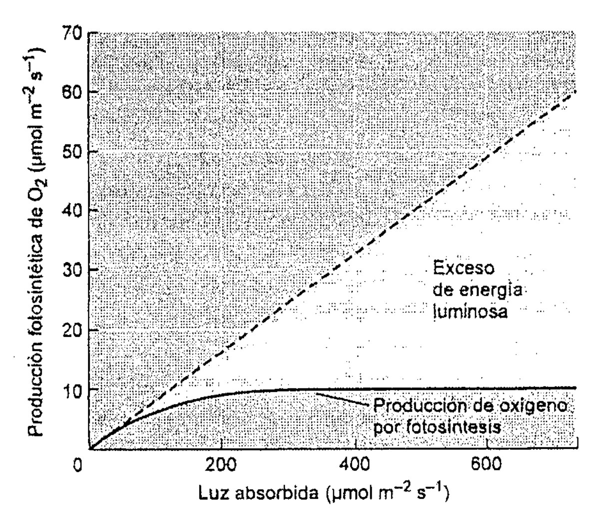


Figura 9.12 Exceso de energía luminosa en una curva de producción de oxígeno en respuesta a la intensidad de luz absorbida. La línea discontinua muestra la producción teórica de oxígeno en ausencia de cualquier limitación de la fotosíntesis. A niveles de flujo fotónico de hasta 150 µmol m^{-2} s^{-1}, una planta de sombra es capaz de utilizar la energía absorbida. Sin embrago, por encima de 150 µmol m^{-2} s^{-1} la fotosíntesis se satura, y se ha de disipar una mayor cantidad de la energía luminosa absorbida. A irradiancias mayores hay una gran diferencia entre la fracción de luz empleada para la fotosíntesis respecto a la que debe ser disipada (exceso de energía luminosa). Las diferencias son mucho mayores en las plantas de sombra que en las de sol. (Según Osmond 1994).

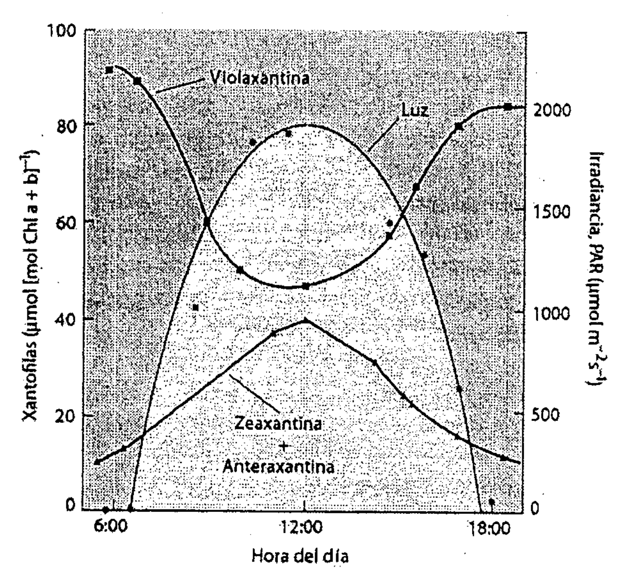


Figura 9.13 Cambios diarios en la concentración de xantofilas en girasol (*Helianthus annuus*) en función de la irradiancia. A medida que aumenta la cantidad de luz incidente sobre la hoja, una mayor proporción de violaxantina es convertida en anteraxantina y ésta en zeaxantina, disipando el exceso de energía de excitación y protegiendo al aparato fotosintético. (Según Demmig-Adams y Adams 1996).

tienen un átomo de oxígeno unido, uno en la anteraxantina y ninguno en la zeaxantina (de nuevo, véase la figura 7.36). Diversos experimentos han mostrado que la zeaxantina es la más eficiente de las tres xantofilas para disipar el calor y que la anteraxantina es la mitad de efectiva. Mientras los niveles de anteraxantina se mantienen más o menos constantes durante todo el día, el contenido de zeaxantina aumenta a irradiancias altas y disminuye a bajas irradiancias.

En hojas que crecen a plena luz del sol, la zeaxantina y la anteraxantina constituyen el 60% de todo el ciclo de las xantofilas a los niveles de irradiancia máximos que existen a mediodía (Figura 9.13). En estas condiciones, una cantidad significativa del exceso de energía luminosa absorbida por las membranas de los tilacoides puede ser disipada como calor, evitando el daño de la maquinaria fotosintética del cloroplasto (véase el capítulo 7). La fracción de luz que es disipada como calor depende de la irradiancia, de las especies, de las condiciones de crecimiento, del estado nutricional y de la temperatura ambiente (Demming-Adams y Adams 1996).

El ciclo de las xantofilas en las hojas de sol y de sombra. Las hojas que crecen a plena luz del sol contienen mayores cantidades de xantofilas que las plantas que crecen a la sombra, de forma que son capaces de disipar mayores cantidades de energía luminosa en exceso. Sin embargo, el ciclo de las xantofilas también opera en plantas que crecen a bajas intensidades de luz en el sotobosque, donde sólo están expuestas ocasionalmente a luz intensa cuando el sol pasa a través de los huecos de las hojas de la copa de los árboles, formando puntos de luz (descritos anteriormente en este capítulo). La exposición a un punto de luz provoca la conversión de la mayor parte de la violaxantina de la hoja en zeaxantina. A diferencia de lo que ocurre normalmente en las hojas, en las que los niveles de violaxantina aumentan de nuevo cuando disminuye la irradiancia, la zeaxantina formada en las hojas a la sombra del sotobosque se mantiene para proteger a la hoja de la exposición a posteriores puntos de luz.

El ciclo de las xantofilas también se encuentra en especies como las coníferas, cuyas hojas permanecen verdes durante el invierno, cuando las tasas fotosintéticas son bajas, mientras que la absorción luminosa permanece alta. A diferencia del ciclo diurno de las xantofilas observado durante el verano, los niveles de zeaxantina permanecen altos durante todo el invierno. Este mecanismo, probablemente, maximiza la disipación de la energía luminosa, protegiendo además a las hojas de la fotooxidación durante el invierno (Adams y col. 2001).

Además de proteger al aparato fotosintético de la luz intensa, el ciclo de las xantofilas puede ayudar a protegerlo de las altas temperaturas. Los cloroplastos son más tolerantes al calor cuando acumulan zeaxantina (Havaux y col. 1996). Así, las plantas pueden emplear más de un mecanismo bioquímico para protegerse del daño deletéreo del exceso de calor.

Las hojas deben disipar grandes cantidades de calor

Las hojas expuestas al sol acumulan una gran cantidad de calor. De hecho, una hoja con un espesor de 300 µm podría aumentar su temperatura hasta en 100°C por minuto si toda la energía solar fuera absorbida y no fuera disipada en forma de calor. Sin embargo, esta enorme cantidad de calor absorbido es disipada por la emisión de radiación de longitud de onda larga, por pérdida discreta de calor y por pérdida de calor por evaporación (o calor latente) (Figura 9.14):

- El aire que circula alrededor de la hoja elimina el calor de la superficie de la hoja si la temperatura de la hoja es mayor que la del aire; a este fenómeno se le denomina **pérdida discreta de calor**.
- La **pérdida de calor latente** se debe a que la evaporación del agua requiere energía. Así, a medida que el agua se evapora de la hoja, consume calor de la hoja y ésta se enfría. El cuerpo humano se enfría por el mismo principio, a través de la sudoración.

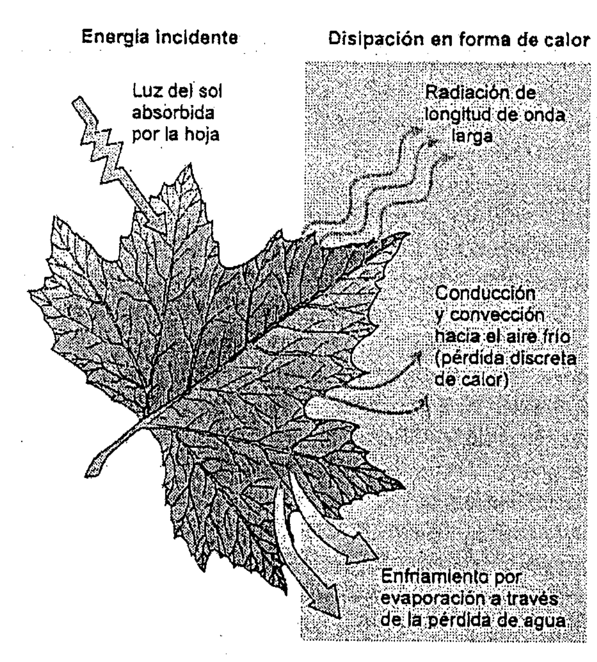


Figura 9.14 Absorción y disipación de energía luminosa del sol por la hoja. El calor que absorbe la hoja debe ser disipado para evitar el daño por calor. El calor absorbido es disipado por emisión de radiación de longitud de onda larga, por pérdida discreta de calor al aire próximo a la hoja y por enfriamiento por evaporación provocado por transpiración.

- La pérdida discreta de calor y la pérdida de calor latente son los dos procesos principales que regulan la temperatura de la hoja, y la relación entre ellos se denomina **relación de Bowen** (Campbell 1977):

$$\text{Relación de Bowen} = \frac{\text{Pérdida discreta de calor}}{\text{Pérdida de calor latente}}$$

En cultivos con aporte abundante de agua, la transpiración (véase el capítulo 4) y, por tanto, la evaporación de agua de la hoja es alta, por lo que la tasa de Bowen es baja (véase el **tema web 9.2**). Por el contrario, cuando el enfriamiento por evaporación está limitado, la relación de Bowen es grande. Por ejemplo, en algunos cactus, el cierre estomático impide el enfriamiento por evaporación; todo el calor es disipado por pérdida discreta de calor y la relación de Bowen tiende a infinito.

Las plantas con una alta relación de Bowen conservan bien el agua, pero tienen que soportar altas temperaturas en las hojas para mantener un gradiente de temperatura adecuado y suficiente entre la hoja y el aire. Estas adaptaciones se suelen correlacionar con un crecimiento lento.

La síntesis de isopreno ayuda a las hojas a eliminar el calor

Hemos visto que el ciclo de las xantofilas puede proteger de la luz intensa, pero ¿cómo se enfrentan los cloroplastos a las altas temperaturas de las hojas que normalmente acompañan a la luz intensa? La síntesis de isopreno parece conferir estabilidad a las membranas fotosintéticas frente a altas intensidades luminosas y altas temperaturas. Muchas plantas, incluidas el roble americano (*Quercus* sp.), álamo (*Populus* sp.) y kudzú común (*Pueraria lobata*), emiten moléculas gaseosas de cinco átomos de carbono como el isopreno (2-metil-1,3-butadieno, véase el capítulo 13).

A escala global, estas emisiones suponen una liberación a la atmósfera de 5×10^{14} g por año. Estos hidrocarburos gaseosos son los responsables del olor del pino (α- y β-pineno) en los bosques de coníferas y pueden llegar a formar una neblina azul sobre los bosques en días calurosos. El isopreno y los hidrocarburos relacionados han atraído mucho la atención de los científicos porque tienen un papel importante en la química atmosférica.

La emisión de isopreno de las hojas puede suponer una parte importante del carbono asimilado en la fotosíntesis. Por ejemplo, en hojas de álamo y roble a 30°C la liberación del isopreno puede suponer hasta un 2% del carbono fijado por fotosíntesis (Sharkey 1996). Las hojas de sol sintetizan más isopreno que las hojas de sombra y la síntesis es proporcional a la temperatura de la hoja y al estrés hídrico.

La evidencia de que el isopreno proporciona estabilidad a las membranas fotosintéticas a altas temperaturas se basa en diversos resultados experimentales:

1. Mientras que la susceptibilidad al daño por calor aumenta cuando se impide la emisión de isopreno con un inhibidor, la adición de isopreno a plantas que no lo producen les confiere estabilidad al calor (Sharkey y col. 2001).
2. Las plantas mutantes incapaces de emitir isopreno son dañadas más fácilmente por altas temperaturas que las plantas silvestres (Sharkey y Singsaas 1995).
3. El isopreno es rápidamente sintetizado enzimáticamente en respuesta a temperaturas elevadas.

La absorción de luz en exceso puede provocar fotoinhibición

Recordemos del capítulo 7 que cuando las hojas se exponen a más luz de la que pueden utilizar (Figura 9.12), el centro de reacción del PSII es inactivado y dañado,

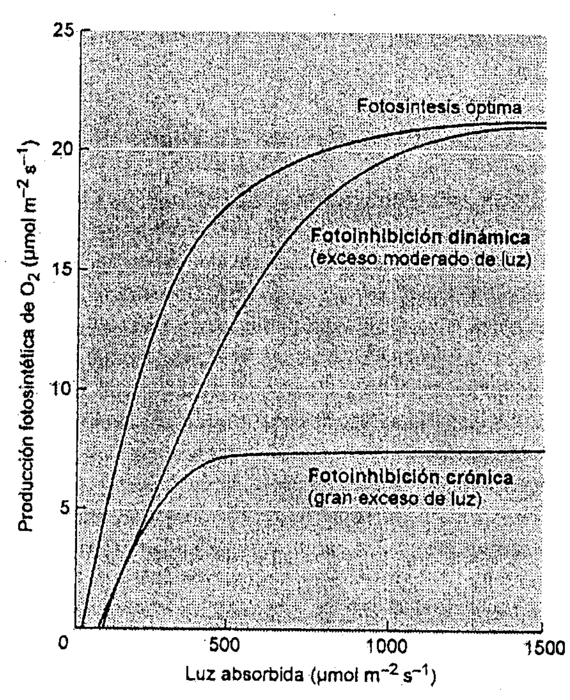


Figura 9.15 Cambios en las curvas de respuesta a la luz de la fotosíntesis provocados por la fotoinhibición. La exposición a niveles moderados de exceso de luz puede reducir la eficiencia cuántica (reduce la pendiente de la curva) sin reducir la máxima tasa fotosintética, una condición conocida como fotoinhibición dinámica. La exposición a altos niveles de exceso de luz conduce a la fotoinhibición crónica, donde el daño a los cloroplastos disminuye el rendimiento cuántico y la tasa fotosintética máxima. (Según Osmond 1994).

por un fenómeno llamado **fotoinhibición**. Las características de la fotoinhibición en hojas intactas dependen de la cantidad de luz a la que la planta esté expuesta (Figura 9.15), de forma que se identifican dos tipos de fotoinhibición: la fotoinhibición dinámica y la fotoinhibición crónica (Osmond 1984).

La **fotoinhibición dinámica** se produce con un exceso moderado de luz. La eficiencia cuántica disminuye (compárense las pendientes de las curvas de la figura 9.15), aunque la tasa fotosintética máxima permanece invariable. La fotoinhibición dinámica está provocada por la desviación de la energía luminosa absorbida hacia la disipación de calor, de ahí el descenso en la eficiencia cuántica. Este descenso suele ser temporal y la eficiencia cuántica puede volver a su valor inicial más elevado cuando el flujo fotónico disminuye por debajo de los niveles de saturación.

La **fotoinhibición crónica** se produce por exposición a niveles elevados de exceso de luz, que dañan el sistema fotosintético y disminuye tanto la eficiencia cuántica como la tasa fotosintética máxima (véase la figura 9.15). La fotoinhibición crónica está asociada con el daño y sustitución de la proteína D1 del centro de reacción de, PSII (véase el capítulo 7). A diferencia de la fotoinhibición dinámica, estos efectos se mantienen durante semanas o meses.

En las primeras investigaciones sobre fotoinhibición se interpretaban todos los descensos en la eficiencia cuántica como daños en el aparato fotosintético. Actualmente se reconoce que el descenso de la eficiencia cuántica a corto plazo parece reflejar mecanismos protectores (véase el capítulo 7), mientras que la fotoinhibición crónica representa el daño real al cloroplasto como consecuencia de un exceso de luz o de un fallo de los mecanismos protectores.

¿Qué papel juega la fotoinhibición en la naturaleza? La fotoinhibición dinámica parece producirse normalmente a mediodía, cuando las hojas están expuestas a los mayores niveles de luz y se corresponde con una reducción en la fijación del carbono. La fotoinhibición es más acusada a temperaturas bajas y se convierte en crónica en condiciones climáticas extremas.

Los estudios en poblaciones naturales de sauce y cultivos de *Brassica napus* (nabo) y *Zea mays* (maíz) han mostrado que los efectos acumulativos del descenso diario en las tasas fotosintéticas provocados por la fotoinhibición, disminuyen la biomasa en un 10% al final del periodo de crecimiento (Long y col. 1994). Esto no parece constituir un efecto particularmente importante, pero podría ser significativo en poblaciones de plantas naturales que compiten por los recursos, condiciones en las que cualquier reducción del carbono dirigido a la reproducción puede afectar negativamente al éxito reproductivo y a la supervivencia de la especie.

RESPUESTAS FOTOSINTÉTICAS AL DIÓXIDO DE CARBONO

Hemos estado analizando cómo influye la luz sobre el crecimiento vegetal y la anatomía de la hoja. Centremos ahora nuestra atención en cómo afectan a la fotosíntesis las concentraciones de CO_2. El CO_2 difunde desde la atmósfera a las hojas, en primer lugar a través de los estomas, para pasar por los espacios aéreos intercelulares y, finalmente, entrar en las células y en los cloroplastos. En presencia de cantidades adecuadas de luz, altas concentraciones de CO_2 permiten mantener tasas fotosintéticas altas. Lo contrario también es cierto; es decir, una baja concentración de CO_2 puede limitar el nivel de fotosíntesis.

En esta sección analizaremos la concentración de CO_2 atmosférico en la historia reciente y su disponibilidad en los procesos de fijación del carbono. Consideraremos entonces las limitaciones que tienen lugar en la fotosíntesis y el impacto de los mecanismos de concentración del CO_2 de las plantas C_4.

La concentración de CO_2 atmosférico continúa aumentando

El dióxido de carbono es un gas que se encuentra en la atmósfera en trazas, constituyendo un 0,037%, ó 370 partes por millón (ppm) del aire. La presión parcial de CO_2 en el ambiente (C_a) varía con la presión atmosférica y es aproximadamente de 36 pascales (Pa) a nivel del mar (véase el **tema web 9.3**). El vapor de agua constituye un 2% de la atmósfera y el oxígeno alrededor del 20%, siendo la mayor parte de la atmósfera nitrógeno, casi un 80%.

La concentración actual en la atmósfera es aproximadamente el doble de la que ha existido en los últimos 160.000 años, tal y como se ha demostrado a partir de datos obtenidos por cuantificación de burbujas de aire atrapadas en el hielo de la Antártida (Figura 9.16A). Excepto en los últimos 200 años, en el pasado geológico reciente las concentraciones de CO_2 se han mantenido bajas, oscilando entre 180 y 260 ppm. Estas bajas concentraciones fueron normales en los diversos periodos hasta el Cretácico, cuando la Tierra era mucho más caliente y la concentración de CO_2 llegó a niveles de oscilaron entre 1200 y 2800 ppm (Ehleringer y col. 1991).

La concentración actual de CO_2 en la atmósfera está aumentando 1 ppm por año, principalmente debido a la quema de combustibles fósiles (véase la figura 9.16C). Desde

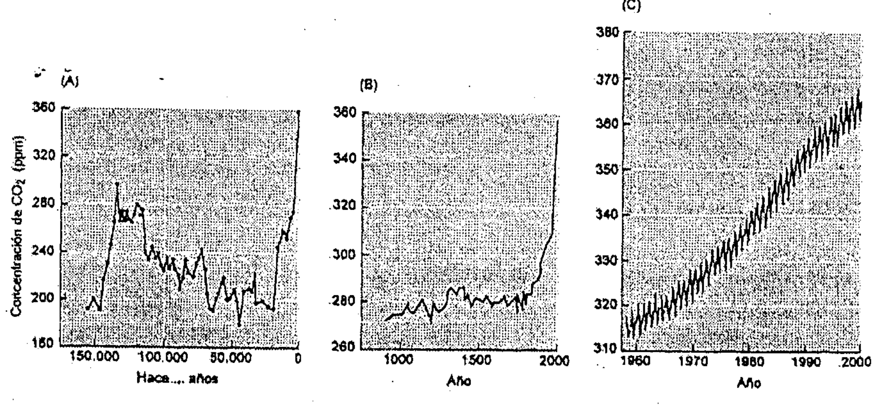


Figura 9.16 Concentración de CO_2 atmosférico en los últimos 160.000 años. (A) Las concentraciones atmosféricas de CO_2 del pasado, determinadas a partir de burbujas atrapadas en el hielo glacial de la Antártica, eran muy inferiores de los niveles actuales. (B) En los últimos 1000 años, el aumento en la concentración de CO_2 coincide con la Revolución Industrial y el aumento del uso de combustibles fósiles. (C) Las concentraciones actuales de CO_2 medidas en Mauna Loa (Hawai) continúan aumentando. La naturaleza oscilante del registro se debe al cambio en las concentraciones atmosféricas de CO_2 asociadas con el crecimiento de los cultivos agrícolas. Cada año, las concentraciones mayores se observan en mayo, justo antes de la estación de crecimiento en el hemisferio norte, y las concentraciones más bajas se observan en octubre. (Según Bartola y col. 1994; Keeling y Whorf 1994; Neftel y col. 1994 y Keeling y col. 1995).

que en 1958 se inició en Mauna Loa (Hawai) la medida sistemática de la concentración de CO_2, las concentraciones de este gas han aumentado más de un 17% (Keeling y col. 1995), y se prevé que la concentración de CO_2 en el 2020 sea de 600 ppm.

El efecto invernadero. Las consecuencias de este aumento del CO_2 atmosférico están siendo intensamente analizadas por científicos y agencias gubernamentales, particularmente debido a las predicciones de que el **efecto invernadero** está alterando el clima mundial. El término *efecto invernadero* se refiere al calentamiento progresivo del clima de la Tierra, debido a la absorción de la radiación de longitud de onda larga por la atmósfera.

El cristal de un invernadero transmite la luz visible, que es absorbida por las plantas y otras superficies dentro del invernadero. Parte de la energía absorbida es convertida en calor y otra parte es reemitida como radiación de longitud de onda larga. Debido a que el cristal no transmite fácilmente la radiación de longitud de onda larga, esta radiación no puede abandonar el invernadero, provocando su calentamiento.

Ciertos gases en la atmósfera, sobre todo el dióxido de carbono y el metano, juegan el mismo papel que el cristal del invernadero. El aumento de la concentración de CO_2 y la temperatura asociada al efecto invernadero pueden influir en la fotosíntesis. A las concentraciones actuales de CO_2, en la mayoría de las plantas C_3 la fotosíntesis está limitada por el CO_2 (como analizaremos más adelante en este capítulo), pero esta situación podría cambiar si las concentraciones de CO_2 continúan aumentando. En condiciones de laboratorio, la mayoría de las plantas C_3 crecen de un 30 a un 60% más rápido cuando se duplican los niveles de CO_2 (a 600-700 ppm) y la tasa de crecimiento cambia dependiendo del estado nutricional (Bowen 1993). En algunas plantas el aumento del crecimiento es sólo temporal.

En muchos cultivos como tomate, lechuga, pepino y rosas, que crecen en condiciones óptimas de nutrientes, el enriquecimiento de dióxido de carbono en el invernadero es una práctica común para aumentar la productividad. La optimización de la fotosíntesis en plantas C_3 por un incremento en concentraciones de CO_2 es debida a un descenso en la fotorrespiración (véase el capítulo 8).

La difusión de CO_2 al cloroplasto es esencial para la fotosíntesis

Para que la fotosíntesis tenga lugar, el dióxido de carbono tiene que difundir desde la atmósfera a la hoja y al lugar donde se produce la carboxilación de la rubisco. Como las velocidades de difusión dependen de los gradientes de concentración (véanse los capítulos 3 y 6), se necesitan gradientes adecuados para asegurar la difusión del CO_2 desde la superficie de la hoja al cloroplasto.

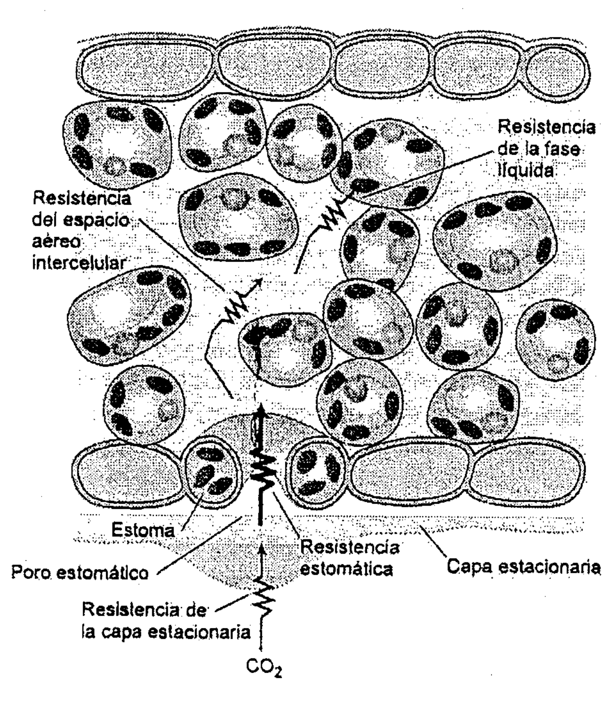


Figura 9.17 Puntos de resistencia a la difusión del CO_2 desde el exterior de la hoja hasta los cloroplastos. El poro estomático es el principal punto de resistencia a la difusión del CO_2.

La cutícula que cubre la hoja es prácticamente impermeable al CO_2, por eso, el principal punto de entrada del CO_2 en la hoja es el poro estomático. Desde el poro, el CO_2 difunde a la cavidad subestomática y al interior de los espacios aéreos intercelulares entre las células del mesofilo. Esta parte de la ruta de difusión del CO_2 al interior del cloroplasto, es una fase gaseosa. El resto de la ruta de difusión hasta el cloroplasto, es una fase líquida, que comienza en la capa acuosa que baña las paredes de las células del mesofilo y continua a través de la membrana plasmática, el citoplasma y el cloroplasto. (Para un análisis de las propiedades del CO_2 en solución, véase el **tema web 8.3**).

Cada parte de esta ruta de difusión impone una resistencia a la difusión del CO_2, por eso el aporte de CO_2 para la fotosíntesis puede describirse como una ruta de diferentes puntos de resistencia (Figura 9.17). El análisis de la magnitud de cada resistencia nos ayudará a comprender mejor las limitaciones del CO_2 en la fotosíntesis.

El dióxido de carbono entra en los espacios aéreos intercelulares de la hoja a través de los poros estomáticos. Desde los espacios aéreos se disuelve en el agua de las paredes celulares y entonces difunde a la célula y al cloroplasto. La misma ruta, pero en sentido contrario, es seguida por el H_2O.

El hecho de que el CO_2 y el agua compartan esta ruta crea un dilema funcional en la planta. Cuando el aire tiene una alta humedad relativa, el gradiente de difusión que dirige la pérdida de agua es unas 50 veces más grande que el gradiente que dirige la incorporación de CO_2. Cuando el aire es más seco, este gradiente puede ser significativamente más grande. Así pues, un descenso en la resistencia estomática por apertura de los estomas, facilita una incorporación mayor de CO_2, pero inevitablemente, implica una pérdida sustancial de agua.

Recordemos del capítulo 4 que la fase gaseosa de la difusión del dióxido de carbono en la hoja se puede dividir en tres componentes, la capa estacionaria, los estomas y los espacios intercelulares de la hoja; cada uno de los cuales implica una resistencia a la difusión del CO_2 (véase la figura 9.17).

La capa estacionaria es una capa de aire relativamente inmóvil en la superficie de la hoja y su resistencia a la difusión se llama **resistencia de la capa estacionaria**. La magnitud de la resistencia de la capa estacionaria disminuye con el tamaño de la hoja y con la velocidad del viento. La resistencia de la capa estacionaria al agua y a la difusión del CO_2 está físicamente relacionada con la pérdida discreta de calor analizada anteriormente.

Las hojas más pequeñas tienen una resistencia de la capa estacionaria más baja a la difusión de CO_2 y agua, y a la pérdida discreta de calor. Las hojas de las plantas desérticas normalmente son pequeñas, facilitando la pérdida discreta de calor. Las hojas grandes, que con frecuencia se encuentran en los trópicos húmedos, pueden tener grandes resistencias de la capa estacionaria, pero esas hojas pueden disipar la radiación de calor absorbido por enfriamiento por evaporación debido a que son posibles altas tasas de transpiración, por el aporte abundante de agua que existe en estos hábitats.

Tras la difusión a través de la capa estacionaria, el CO_2 entra en la hoja a través de los poros estomáticos, que suponen la siguiente resistencia en el camino de la difusión, la **resistencia estomática**. En la mayoría de las condiciones en la naturaleza, en las que el aire que rodea una hoja rara vez está completamente en reposo, la resistencia de la capa estacionaria es mucho más pequeña que la resistencia estomática, por lo que la principal limitación a la difusión del CO_2 es la resistencia estomática.

Hay también una resistencia a la difusión del CO_2 en los espacios aéreos que separan la cavidad subestomática de las paredes de las células del mesofilo, la **resistencia de los espacios aéreos intercelulares**. Esta resistencia normalmente es pequeña, provocando una caída de 0,5 Pa o menos en la presión parcial de CO_2, comparada con los 36 Pa en el exterior de la hoja.

La resistencia a la difusión del CO_2 de la fase líquida, la **resistencia de la fase líquida**, también llamada **resistencia del mesofilo**, incluye la difusión desde los

espacios intercelulares de la hoja a los sitios de carboxilación en el cloroplasto. Se ha calculado que la resistencia de la fase líquida a la difusión del CO_2 es aproximadamente de una décima de la combinación de la resistencia de la capa estacionaria y la resistencia estomática cuando los estomas están completamente abiertos. Este valor bajo de la resistencia puede ser atribuido parcialmente a la gran área superficial de las células del mesofilo expuesta a los espacio aéreos intercelulares, que puede ser de 10 a 30 veces el área proyectada de la hoja (Syversten y col. 1995). Además, la localización de los cloroplastos cerca de la periferia de la célula minimiza la distancia que el CO_2 ha de difundir hasta alcanzar los sitios donde se produce la carboxilación en el cloroplasto.

Las principales características que facilitan la difusión interna y la incorporación del CO_2 por las hojas son la posición de los cloroplastos y el relativamente gran porcentaje de espacio intercelular (entre un 20-40%) (Evans 1999). Como los poros estomáticos normalmente imponen la mayor resistencia a la incorporación de CO_2 y a la pérdida de agua en la ruta de difusión, esta regulación proporciona a la planta una ruta efectiva de control del intercambio gaseoso entre la hoja y la atmósfera. En medidas experimentales de intercambio gaseoso de las hojas, la resistencia de la capa estacionaria y la resistencia del espacio aéreo intercelular normalmente se ignoran, y se utiliza la respuesta estomática como el único parámetro para determinar la resistencia de la fase gaseosa al CO_2 (véase el **tema web 9.4**).

Los patrones de absorción de luz generan gradientes de fijación de CO_2 en la hoja

Hemos analizado que la anatomía de la hoja está especializada en la captura de la luz y en facilitar la difusión interna del CO_2, pero ¿dónde se producen las máximas tasas fotosintéticas en las hojas? En la mayoría de las hojas, la luz es absorbida preferentemente en la superficie superior, mientras que el CO_2 entra a través de la superficie inferior. Dado que la luz y el CO_2 entran por lados opuestos de la hoja, ¿se produce la fotosíntesis uniformemente en toda la hoja o hay un gradiente de fotosíntesis? Las propiedades fotosintéticas de una hoja vienen determinadas por:

- Perfiles de absorción de la luz a través del mesofilo
- Capacidad fotosintética de esos tejidos
- Aporte interno de CO_2

Para la mayoría de las hojas, la difusión interna de CO_2 es rápida, por eso las limitaciones en la realización de la fotosíntesis en la hoja vienen impuestas por otros factores distintos del aporte de CO_2. Cuando la luz blanca entra en la superficie superior de una hoja, cerca de la superficie irradiada se absorben preferentemente los fotones del azul y del rojo (Figura 9.18), que corresponde a las bandas de fuerte absorción de la clorofila que se encuentran en las regiones del azul y del rojo del espectro (véase la figura 7.5). Por otro lado, la luz del verde penetra más profundamente en la hoja. Comparada con la luz del azul y del rojo, las clorofilas absorben muy poco en el verde (de nuevo, véase la figura 7.5). Sin embargo, la luz del verde es muy efectiva como fuente de energía para la fotosíntesis en los tejidos de la hoja sin aporte de fotones de azul y del rojo.

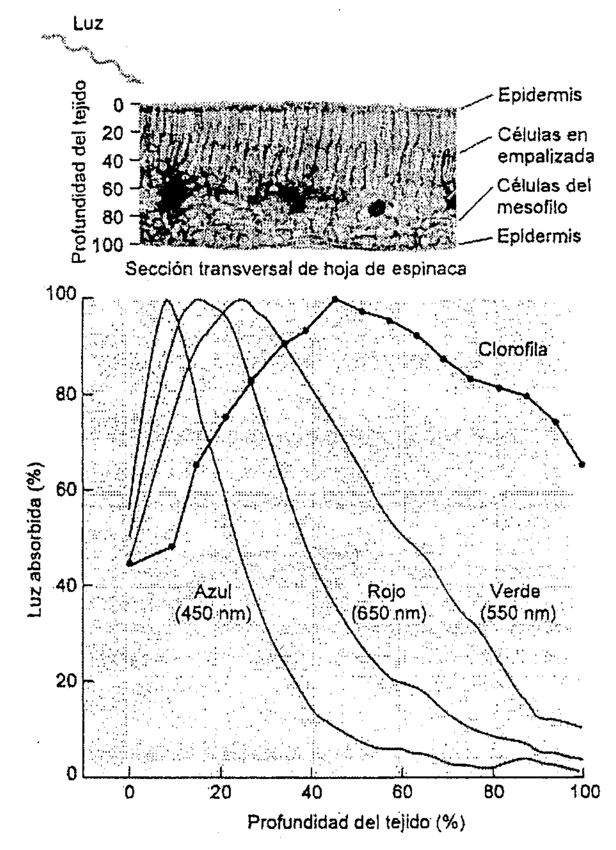


Figura 9.18 Distribución de la luz absorbida en hojas de sol de espinaca. La irradiancia con luz del azul, del verde o del rojo provoca diferentes perfiles de absorción en la hoja. La micrografía superior al gráfico muestra una sección transversal de una hoja de espinaca, con filas de células en empalizada ocupando prácticamente la mitad del grosor de la hoja. Las formas de las curvas son, en parte, resultado de la desigual distribución de la clorofila en los tejidos foliares. (Según Nishio y col. 1993 y Vogelmann y Han 2000; micrografía cortesía de T. Vogelmann).

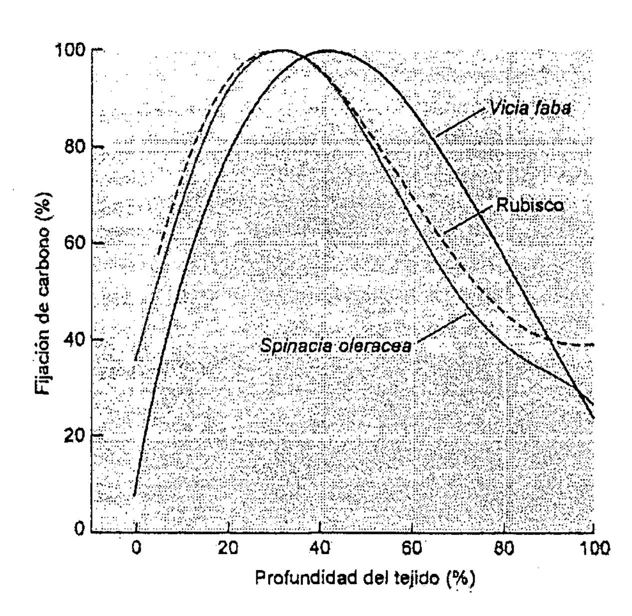
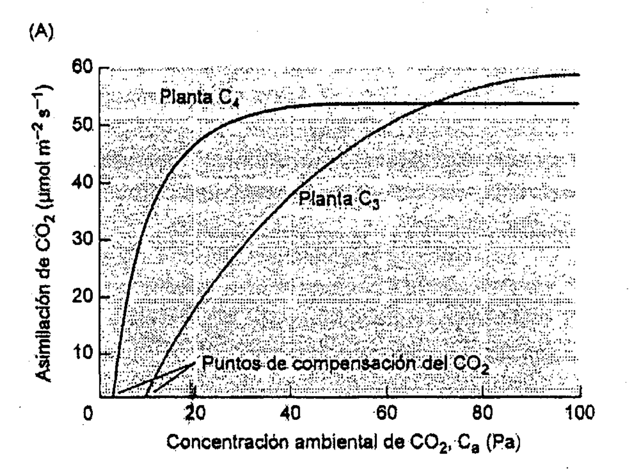


Figura 9.19 Distribución de la rubisco y de la fijación de carbono en hojas. La fijación del carbono (línea continua) en hojas de espinaca se correlaciona con la distribución de rubisco (línea discontinua). Los perfiles de fijación del carbono entre *Vicia* y espinaca son similares. (Según Nishio y col. 1993 y Jeje y Zimmermann 1983).

La capacidad del tejido foliar para la asimilación fotosintética del CO_2 depende en gran parte del contenido en rubisco. En espinaca y en haba (*Vicia faba*), el contenido en rubisco es bajo en la parte alta de la hoja, aumenta hacia la parte media y disminuye de nuevo hacia la parte inferior. Como consecuencia de este reparto, la distribución de fijación de carbono en la hoja tiene forma de campana (Figura 9.19). El mesofilo esponjoso (véase la figura 9.4) fija cerca del 40% del carbono total en espinaca. El significado funcional de la distribución de rubisco y los perfiles de asimilación de carbono en las hojas no se conocen bien, aunque es probable que los perfiles de fotosíntesis varíen en hojas con diferentes anatomías y en hojas adaptadas a diferentes entornos.

El CO_2 impone limitaciones a la fotosíntesis

Las limitaciones intrínsecas impuestas por el aporte de CO_2 se pueden evaluar expresando las tasas fotosintéticas en función de las presiones parciales de CO_2 en los espacios aéreos intercelulares (C_i) de la hoja (véase el **tema web 9.4**). A concentraciones intercelulares de CO_2 muy bajas, la fotosíntesis está fuertemente limitada por el bajo nivel de CO_2 existente, mientras que las tasas respiratorias no se ven afectadas. En consecuencia, hay un equilibrio negativo entre la fijación de CO_2 por fotosíntesis y el CO_2 producido por respiración, y una pérdida neta de CO_2 desde la planta.



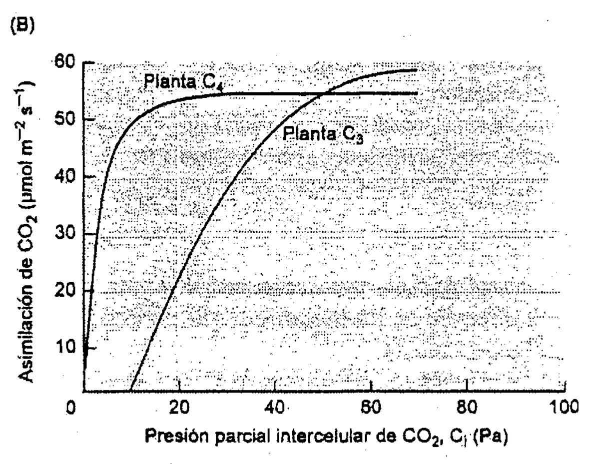


Figura 9.20 Cambios en la fotosíntesis en función de la concentración ambiental e intercelular de CO_2 en *Tidestromia oblongifolia*, una planta C_4, y *Larrea divaricata*, una planta C_3. La tasa fotosintética se representa frente a (A) las presiones parciales de CO_2 en el aire y (B) la presión parcial intercelular de CO_2 calculada para el interior de la hoja (véase la ecuación 5 en el **tema web 9.4**). El punto de compensación de CO_2 se define como la presión parcial de CO_2 a la que la asimilación neta de CO_2 es cero. (Según Berry y Downton 1982)

El aumento del CO_2 intercelular a un punto donde los dos procesos se equilibran entre sí, en **el punto de compensación del CO_2**, provoca que el intercambio neto de CO_2 desde la planta sea cero (Figura 9.20A). Este concepto es análogo al punto de compensación de la luz analizado antes en este capítulo: *El punto de compensación del CO_2 refleja el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración en función de la concentración de CO_2, y el punto de compensación de la luz refleja ese equilibrio en función del flujo fotónico.*

En las plantas C_3, aumentando la concentración de CO_2 sobre el punto de compensación del CO_2 se estimula la fotosíntesis en un amplio rango de concentraciones (véase la figura 9.20A). A concentraciones de CO_2 de bajas a intermedias, la fotosíntesis está limitada por la capacidad de carboxilación de la rubisco. A altas concentraciones de CO_2, la fotosíntesis está limitada por la capacidad del ciclo de Calvin de regenerar el aceptor ribulosa-1,5-bisfosfato, que depende de la velocidad del transporte electrónico. La mayoría de las hojas parece regular su C_i (presión parcial interna de CO_2) regulando la conductancia estomática, dado que es un intermediario entre las limitaciones impuestas por la capacidad de carboxilación y la capacidad de regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato.

Una curva de asimilación de CO_2 en función de las presiones parciales intercelulares nos indica que la fotosíntesis está regulada por CO_2, independientemente del funcionamiento de los estomas (Figura 9.20B). El análisis de dicha curva para plantas C_3 y C_4 revela interesantes diferencias entre los dos tipos de metabolismo del carbono:

- En *plantas C_4*, las tasas fotosintéticas se saturan a valores de C_i de 15 Pa, reflejando la acción efectiva de los mecanismos de concentración de CO_2 en estas plantas (véase el capítulo 8).
- En *plantas C_3*, el aumento de los niveles de C_i de forma continua estimula la fotosíntesis en un rango mucho más amplio.

Estos resultados indican que las plantas C_3 se benefician más de los aumentos en las concentraciones atmosféricas de CO_2 (véase la figura 9.16). Por el contrario, la fotosíntesis de las plantas C_4 se satura a bajas concentraciones y, como consecuencia de ello, las plantas C_4 no se benefician de los aumentos en las concentraciones atmosféricas de CO_2. La figura 9.20 también muestra que las plantas con metabolismo C_4 tienen un punto de compensación de CO_2 de cero o próximo a cero, reflejando niveles muy bajos de fotorrespiración (véase el capítulo 8). Esta diferencia entre plantas C_3 y C_4 no se observa cuando se realizan experimentos a bajas concentraciones de oxígeno, dado que la oxigenación también está suprimida en plantas C_3.

Los mecanismos de concentración del CO_2 afectan a la respuesta fotosintética de la hoja intacta

La concentración de CO_2 en los sitios de carboxilación en los cloroplastos C_4 con frecuencia está saturando la actividad de la rubisco, debido a los mecanismos de concentración de CO_2 que actúan en plantas C_4. Por ello, las plantas con metabolismo C_4

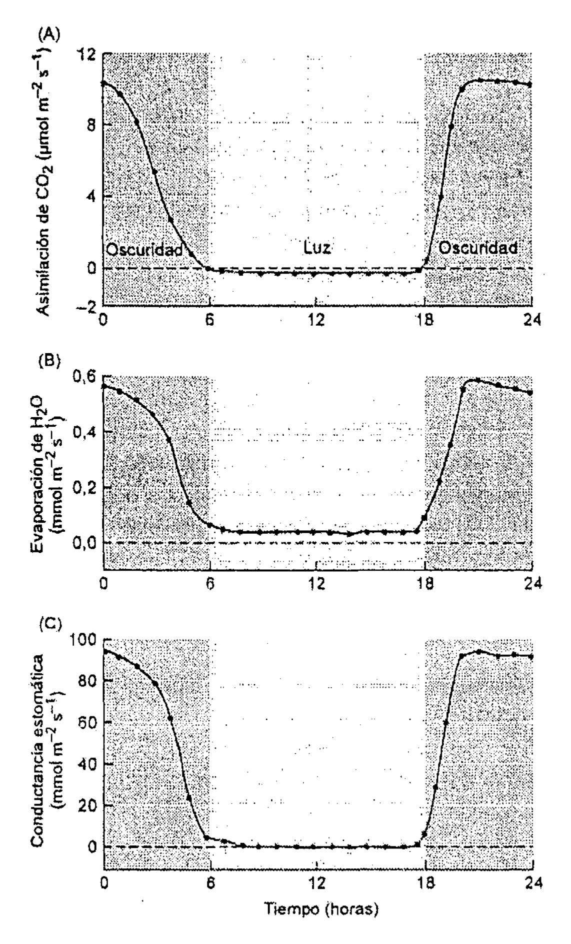


Figura 9.21 Asimilación fotosintética del carbono, evaporación y conductancia estomática de una planta CAM, el cactus *Opuntia ficus-indica*, durante un período de 24 horas. Toda la planta se mantuvo en una cámara de intercambio de gases en el laboratorio. Las áreas sombreadas indican el período de oscuridad. A diferencia del metabolismo de las plantas C_3 o C_4, las plantas CAM abren sus estomas y fijan el CO_2 por la noche. (Según Gibson y Nobel 1986).

necesitan menos rubisco que las plantas C_3 para alcanzar una tasa fotosintética dada y así requieren menos nitrógeno para crecer (von Caemmerer 2000).

Además, los mecanismos de concentración del CO_2 permiten mantener tasas fotosintéticas altas con valores de C_i más bajos, lo cual requiere tasas de conductancia estomática más bajas para una tasa de fotosíntesis dada. De esta forma, las plantas C_4 pueden utilizar el agua y el nitrógeno más eficientemente que las plantas C_3. Por otra parte, el coste adicional de energía de los mecanismos de concentración (véase el capítulo 8) hace que las plantas C_4 sean menos eficientes en su aprovechamiento de la luz. Esta es probablemente una de las causas por la que muchas plantas de sombra son plantas C_3.

Muchos cactus y otras plantas carnosas con metabolismo CAM abren sus estomas durante la noche y los cierran durante el día (Figura 9.21). El CO_2 incorporado durante la noche es fijado en malato (véase el capítulo 8). Como las temperaturas durante la noche son mucho más bajas que durante el día, la pérdida de agua es más pequeña y se retiene una cantidad suficiente.

El principal inconveniente de las plantas con metabolismo CAM es que la capacidad para almacenar ácido málico es limitada, lo cual restringe los máximos de CO_2 incorporados. No obstante, muchas plantas CAM pueden fijar CO_2 a través del ciclo de Calvin al final del día, cuando los gradientes de temperatura son menos extremos.

Los cladodios (tallos modificados) de los cactus pueden sobrevivir sin agua varios meses después de haber sido cortados de la planta. Sus estomas están cerrados todo el tiempo y el CO_2 liberado en la respiración es refijado a malato. Este proceso, que se ha llamado CAM *ocioso*, permite a la planta sobrevivir durante largos períodos de tiempo perdiendo muy poca agua.

La discriminación de los isótopos del carbono revela diferentes rutas fotosintéticas

El CO_2 atmosférico contiene de forma natural los isótopos ^{12}C, ^{13}C y ^{14}C en las proporciones 98,9%, 1,1% y 10^{-10}%, respectivamente. El $^{14}CO_2$ está presente en cantidades tan pequeñas que no tiene relevancia fisiológica, pero el $^{13}CO_2$ es diferente. Las propiedades químicas del $^{13}CO_2$ son idénticas a las del $^{12}CO_2$, pero debido al ligero aumento de su masa (2,3%), la mayoría de las plantas asimilan menos $^{13}CO_2$ que $^{12}CO_2$. En otras palabras, la mayoría de las plantas discriminan el isótopo pesado y tienen una proporción de ^{13}C respecto de ^{12}C diferente de la que se encuentra en el CO_2 atmosférico. ¿Cómo son capaces de distinguir las plantas entre los dos isótopos del carbono? Aunque la discriminación de ^{13}C es sutil, la composición isotópica de la planta revela mucha información.

La composición isotópica del carbono se mide utilizando un espectrómetro de masas, que mide la relación:

$$R = \frac{^{13}CO_2}{^{12}CO_2} \qquad (9.1)$$

La **composición isotópica** de plantas, $\delta^{13}C$, se cuantifica en base a tanto por mil (‰):

$$\delta^{13}C‰ = \left(\frac{R_{muestra}}{R_{estándar}} - 1\right) \times 1000 \qquad (9.2)$$

donde el estándar representa los isótopos de carbono contenidos en un fósil de belemnita de caliza de Pee Dee de Carolina del Sur. El $\delta^{13}C$ del CO_2 atmosférico tiene un valor de -8, lo que significa que hay menos ^{13}C en el CO_2 atmosférico que el que se encuentra en la belemnita estándar. ¿Cuáles son los valores típicos de la composición isotópica del carbono en plantas? Las plantas C_3 tienen un $\delta^{13}C$ de unos –28 y las plantas C_4 tienen un valor medio de –14 (Farquhar y col. 1989). Tanto las plantas C_3 como las C_4 tienen menos ^{13}C que en la muestra estándar, lo que significa que hay una discriminación del ^{13}C durante el proceso fotosintético.

Como el cálculo por mil implica la multiplicación por 1000, la discriminación isotópica es pequeña. Sin embargo, las diferencias en la discriminación isotópica son fácilmente detectables con un espectrómetro de masas. Por ejemplo, la medida de $\delta^{13}C$ del azúcar de mesa (sacarosa) hace posible determinar que la sacarosa procede de la remolacha azucarera (una planta C_3) o de la caña de azúcar (una planta C_4).

¿Dónde está la base de la eliminación del ^{13}C en las plantas? Una razón tanto en plantas C_3 como en C_4 es la difusión. El CO_2 difunde desde el aire exterior de la hoja a los sitios de carboxilación en las hojas. Como el $^{12}CO_2$ es ligeramente menor que el $^{13}CO_2$, difunde ligeramente más rápido hacia el sitio de carboxilación creando una discriminación en la difusión efectiva de un –4. No obstante, el mayor punto de discriminación isotópica se encuentra en la reacción de carboxilación catalizada por la rubisco (Farquhar y col. 1989).

La rubisco tiene un valor intrínseco de discriminación del ^{13}C del 30. Sin embargo, la PEP carboxilasa, el principal enzima de fijación del CO_2 en plantas C_4, tiene una discriminación isotópica mucho menor (de un 2 a un 6). Así, la diferencia inherente entre los efectos de la discriminación de los dos enzimas que realizan la carboxilación explica la diferente composición isotópica observada en plantas C_3 y C_4 (Farquhar y col. 1989).

Existen otras características fisiológicas que afectan a la composición isotópica. Un factor es la presión parcial de CO_2 en los espacios aéreos intercelulares de las hojas (C_i). En plantas C_3 el potencial de discriminación de la rubisco de -30 no está completamente expresado porque la disponibilidad de CO_2 en el sitio de carboxilación llega a ser un factor limitante que restringe la discriminación por la rubisco. Una mayor discriminación se produce cuando C_i es alto, y también cuando los estomas están abiertos. La apertura estomática también facilita la pérdida de agua. De este modo, un menor uso eficiente del agua se correlaciona con una mayor discriminación frente al ^{13}C. (Farquhar y col. 1989).

Los combustibles fósiles tienen un $\delta^{13}C$ de –26 ‰ porque el carbono en estos depósitos procede de organismos que tenían una ruta de fijación del carbono C_3. Además, la medida del $\delta^{13}C$ en restos fósiles de suelos que contienen carbonato y en dientes fósiles ha permitido determinar que la fotosíntesis C_4 se desarrolló recientemente (véase el **tema web 9.5**).

Las plantas CAM tienen valores de $\delta^{13}C$ que son intermedios entre los de las plantas C_3 y C_4. En las plantas CAM, que fijan CO_2 durante la noche vía PEP carboxilasa, $\delta^{13}C$ es similar al de las plantas C_4. Sin embargo, cuando algunas plantas CAM se riegan bien, cambian al modo C_3 abriendo sus estomas y fijando CO_2 durante el día, vía rubisco. Así, los valores $^{13}C/^{12}C$ de las plantas CAM muestran cuánto carbono se fija por la ruta C_3 y cuánto por la ruta C_4 (véase el **tema web 9.5**).

Las plantas también tienen fracciones de otros isótopos como el $^{18}O/^{16}O$ y $^{15}N/^{14}N$ y se pueden utilizar los diversos patrones de enriquecimiento o falta de isótopos como indicadores de rutas o características metabólicas particulares.

RESPUESTAS DE LA FOTOSÍNTESIS A LA TEMPERATURA

Al representar la tasa fotosintética en función de la temperatura se obtienen curvas que tienen una forma característica de campana (Figura 9.22). La rama ascendente de la curva representa una estimulación de la fotosíntesis por la temperatura hasta alcanzar el punto óptimo; la rama descendente está asociada con efectos deletéreos, algunos reversibles y otros no.

La temperatura afecta a todas las reacciones bioquímicas de la fotosíntesis, por eso no es sorprendente que las respuestas a la temperatura sean complejas. Podemos obtener información sobre estos mecanismos por comparación de las tasas fotosintéticas en un aire normal y en un aire con una concentración alta de CO_2. A concentraciones altas de CO_2 (Figura 9.22A) hay un gran aporte de CO_2 a los sitios de carboxilación y la tasa fotosintética está limitada por las reacciones bioquímicas relacionadas con la transferencia de electrones (véase el capítulo 7). En estas condiciones, los cambios de temperatura tienen un efecto importante en las tasas de fijación.

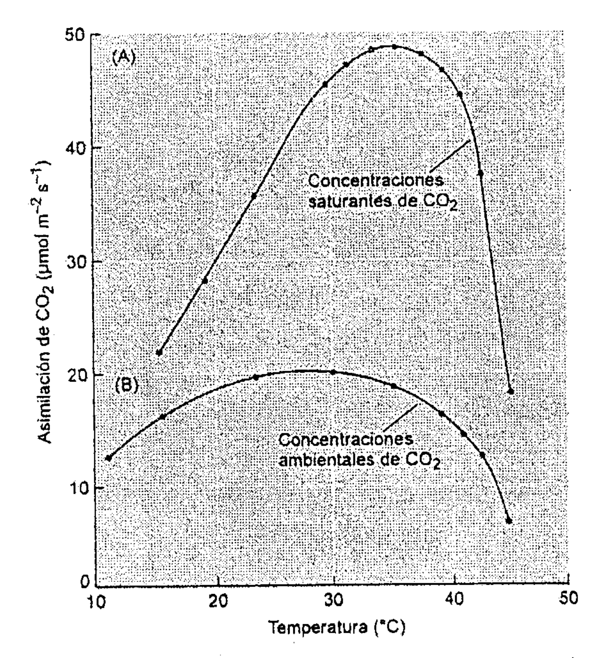


Figura 9.22 Cambios en la fotosíntesis en función de la temperatura a concentraciones de CO_2 que saturan la asimilación fotosintética (A) y a concentraciones atmosféricas normales de CO_2 (B). La fotosíntesis depende fuertemente de la temperatura en condiciones de concentraciones de CO_2 saturantes. Obsérvese que las tasas fotosintéticas son significativamente mayores a concentraciones de CO_2 saturantes. (Redibujado de Berry y Bjorkam 1980).

A concentraciones ambientales de CO_2 (Figura 9.22B), la fotosíntesis está limitada por la actividad de la rubisco y la respuesta refleja dos procesos en conflicto: un aumento de la tasa de carboxilación al aumentar la temperatura y un descenso en la afinidad de la rubisco por el CO_2 al ir aumentando la temperatura (véase el capítulo 8). Estos efectos opuestos reprimen la respuesta de la fotosíntesis a la temperatura a concentraciones ambientales de CO_2.

Las tasas respiratorias aumentan en función de la temperatura y la interacción entre la fotorrespiración y la fotosíntesis es aparente en la respuesta a la temperatura. La figura 9.23 muestra los cambios en el rendimiento cuántico en función de la temperatura en una planta C_3 y en una planta C_4. En plantas C_4, el rendimiento se mantiene constante con la temperatura, reflejando las típicas tasas fotorrespiratorias bajas. En plantas C_3, el rendimiento cuántico disminuye bruscamente con la temperatura, reflejando una estimulación de la fotorrespiración por la temperatura y, por consiguiente, una demanda energética más alta por el CO_2 neto fijado.

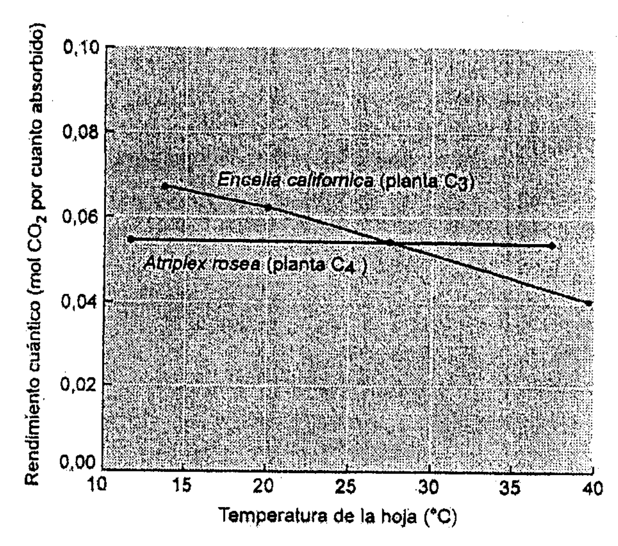


Figura 9.23 Rendimiento cuántico de la fijación fotosintética del carbono en plantas C_3 y C_4 en función de la temperatura de la hoja. En aire normal, la fotorrespiración aumenta con la temperatura en las plantas C_3 y, consecuentemente, aumenta el coste energético neto de la fijación del CO_2. Este mayor coste de energía se traduce en un menor rendimiento cuántico a altas temperaturas. Debido a los mecanismos de concentración de CO_2 de las plantas C_4, en estas plantas la fotorrespiración es más baja y el rendimiento cuántico no depende de la temperatura. Obsérvese, no obstante, que a bajas temperaturas, el rendimiento cuántico de las plantas C_3 es superior al de las plantas C_4, indicando que la fotosíntesis en las plantas C_3 es más eficiente a temperaturas más bajas. (Según Ehleringer y Björkman 1977).

A bajas temperaturas, la fotosíntesis está con frecuencia limitada por la disponibilidad de fosfato en el cloroplasto (Sage y Sharkey 1987). Cuando las triosas fosfato son exportadas de los cloroplastos al citosol, se incorpora una cantidad equimolecular de fosfato inorgánico por transportadores en la membrana del cloroplasto.

Si la velocidad de utilización de la triosa fosfato en el citosol disminuye, la incorporación del fosfato al cloroplasto se inhibe y la fotosíntesis está inhibida por el fosfato (Geiger y Servaites 1994). La síntesis de almidón y sacarosa disminuye rápidamente con la temperatura, reduciendo la demanda de triosas fosfato y provocando la limitación de fosfato que se observa a bajas temperaturas.

Las tasas fotosintéticas más altas en respuesta a la temperatura representan la *temperatura óptima de respuesta*. Cuando se supera esta temperatura, las tasas fotosintéticas disminuyen de nuevo. Se ha analizado que la temperatura óptima es el punto en el cual la capacidad de varias etapas de la fotosíntesis está óptimamente equilibrada con algunas de las etapas limitantes, a medida que la temperatura aumenta o disminuye.

La temperatura óptima tiene componentes genéticos y fisiológicos. Plantas de diferentes especies que crecen en hábitats con diferentes temperaturas tienen diferentes temperaturas óptimas para la fotosíntesis y plantas de la misma especie, que crecen a diferentes temperaturas y de las que se han analizado sus respuestas fotosintéticas, muestran una temperatura óptima que se correlaciona con la temperatura a la cual crecieron. Plantas que crecen a bajas temperaturas mantienen tasas fotosintéticas más altas cuando las temperaturas son bajas que aquellas plantas que crecieron a temperaturas altas.

Estos cambios en las propiedades fotosintéticas en respuesta a la temperatura juegan un papel importante en la adaptación de la planta a distintos entornos. Las plantas son capaces de adaptarse excepcionalmente a las temperaturas. En el rango de bajas temperaturas, las plantas que crecen en áreas alpinas son capaces de incorporar CO_2 a temperaturas cercanas a los 0°C; en el otro extremo, las plantas que viven en el Valle de la Muerte de California, tienen temperaturas óptimas de fotosíntesis aproximadamente de 50°C.

RESUMEN

La actividad fosotintética en la hoja intacta es un proceso integral que depende de muchas reacciones bioquímicas. Las tasas fotosintéticas pueden estar limitadas por diferentes factores ambientales.

La anatomía de la hoja está altamente especializada en la absorción de la luz y las propiedades de las células en empalizada del mesofilo aseguran la absorción uniforme de luz a través de toda la hoja. Además de las características estructurales de la hoja, el movimiento de los cloroplastos en las células y el seguimiento solar del limbo de la hoja ayudan a maximizar la absorción de luz. La luz que se transmite por las hojas superiores es absorbida por las hojas en crecimiento entre ellas.

Muchas propiedades del aparato fotosintético cambian en función de la luz disponible, incluida el punto de compensación de la luz, que es más alto en las hojas que están al sol que en las que están a la sombra. La parte lineal de la curva de respuesta a la luz proporciona una medida del rendimiento cuántico de la fotosíntesis en una hoja intacta. En zonas templadas, el rendimiento cuántico de las plantas C_3 suele ser superior al de las plantas C_4.

La luz del sol impone un aporte de calor importante en la hoja que se disipa de nuevo al aire por pérdida discreta de calor o por enfriamiento por evaporación. El aumento de la concentración de CO_2 en la atmósfera aumenta el calor de la biosfera. Este proceso podría estar causando un cambio climático en el mundo, pero podría también reducir las limitaciones de CO_2 de la fotosíntesis. A elevados flujos fotónicos, en la mayoría de las plantas la fotosíntesis está limitada por el CO_2, pero esta

limitación es inferior en las plantas C_4 y CAM, debido a los mecanismos de concentración de CO_2.

La difusión del CO_2 a la hoja está restringida por una serie de resistencias. La principal restricción suelen ser los estomas. Por eso, la modulación de la apertura estomática proporciona a la planta un control de la pérdida de agua y de la incorporación de CO_2. Las limitaciones de CO_2 de la fotosíntesis se ven afectadas por factores estomáticos y no estomáticos.

Las respuestas de la fotosíntesis a la temperatura reflejan la sensibilidad de las reacciones bioquímicas de la fotosíntesis y son muy superiores a elevadas concentraciones de CO_2. Debido al papel de la fotorrespiración, el rendimiento cuántico depende mucho de la temperatura en las plantas C_3, pero es casi independiente de ella en las plantas C_4.

Las hojas que crecen en climas fríos pueden mantener altas tasas de fotosíntesis a temperaturas inferiores que las que crecen en climas más cálidos. Las hojas que crecen a altas temperaturas funcionan mejor a altas temperaturas. Los cambios funcionales en el aparato fotosintético en respuesta a una temperatura predominante en el entorno tienen un efecto importante en la capacidad de las plantas para vivir en hábitats diversos.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

9.1 Trabajando con la luz
Algunos parámetros importantes para la medida de la luz son cantidad, dirección y calidad del espectro.

9.2 La disipación del calor desde las hojas: La relación de Bowen
La pérdida discreta de calor y la pérdida de calor latente son los dos procesos más importantes en la regulación de la temperatura de la hoja.

9.1 Trabajando con gases
Este tema web explica cómo trabajar con fracciones molares y otros parámetros físicos de los gases.

9.4 Cálculo de parámetros importantes en el intercambio de gases de las hojas
Los métodos de intercambio de gases permiten cuantificar la fotosíntesis y la conductancia estomática en una hoja intacta.

9.5 Discriminación isotópica
La composición isotópica del carbono en las plantas revela una información muy valiosa.

ENSAYO WEB

9.1 El ciclo de las xantofilas
Los estudios moleculares y biofísicos están revelando la función del ciclo de las xantofilas en la protección de las hojas.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Adams W. W., Demmig-Adams B., Rosenstiel T. N. y Ebbert V. (2001) Dependence of photosynthesis and energy dissipation activity upon growth form and light environment during the winter. *Photosynth. Res.* 67: 51–62.

Anderson J. M. (1986) Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37: 93–136.

Barnola J. M., Raynaud D., Lorius C. y Korothevich Y. S. (1994) Historical CO_2 record from the Vostok ice core. En *Trends '93: A Compendium of Data on Global Change* (ORNL/CDIAC-65), T. A. Boden, D. P. Kaiser, R. J. Sepanski y F. W. Stoss, eds., Carbon Dioxide Information Center, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, págs. 7–10.

Berry J. y Björkman O. (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 491–543.

Berry J. A. y Downton J. S. (1982) Environmental regulation of photosynthesis. En *Photosynthesis: Development, Carbon Metabolism and Plant Productivity*, Vol. II, Govindjee, ed., Academic Press, New York, págs. 263–343.

Björkman O. (1981) Responses to different quantum flux densities. En *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 12A, O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond y H. Zeigler, eds., Springer, Berlin, págs. 57–107.

Björn L. O. y Vogelmann T. C. (1994) Quantification of light. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick and G. H. M. Kronenberg, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 17–25.

Bowes G. (1993) Facing the inevitable: Plants and increasing atmospheric CO_2. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 309–332.

Campbell G. S. (1977) *An Introduction to Environmental Biophysics*. Springer-Verlag, New York.

Demmig-Adams B. y Adams W. (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci.* 1: 21–26.

Ehleringer J. R., Björkman O. y Mooney H. A. (1976) Leaf pubescence: Effects on absorptance and photosynthesis in a desert shrub. *Science* 192: 376–377.
Ehleringer J. R. y Björkman O. (1977) Quantum yields for CO_2 uptake in C_3 and C_4 plants. *Plant Physiol.* 59: 86–90.
Ehleringer J. R., Sage R. F., Flanagan L. B. y Pearcy R. W. (1991) Climate change and the evolution of C_4 photosynthesis. *Trends Ecol. Evol.* 6: 95–99.
Evans J. R. (1999) Leaf anatomy enables more equal access to light and CO_2 between chloroplasts. *New Phytol.* 143: 93–104.
Farquhar G. D., Ehleringer J. R. y Hubick K. T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 503–538.
Geiger D. R. y Servaites J. C. (1994) Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C_3 plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 235–256.
Gibson A. C. y Nobel P. S. (1986) *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
Gorton H. L., Williams W. E. y Vogelmann T. C. (1999) Chloroplast movement in *Alocasia macrorrhiza*. *Physiol. Plant.* 106: 421–428.
Harvey G. W. (1979) Photosynthetic performance of isolated leaf cells from sun and shade plants. *Carnegie Inst. Washington Yearbook* 79: 161–164.
Haupt W. y Scheuerlein R. (1990) Chloroplast movement. *Plant Cell Environ.* 13: 595–614.
Havaux M., Tardy F., Ravenel J., Chanu D. y Parot P. (1996) Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: Influence of the xanthophyll content. *Plant Cell Environ.* 19: 1359–1368.
Jarvis P. G. y Leverenz J. W. (1983) Productivity of temperate, deciduous and evergreen forests. En *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 12D, O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond y H. Zeigler, eds., Springer, Berlin, págs. 233–280.
Jeje A. y Zimmermann M. (1983) The anisotropy of the mesophyll and CO_2 capture sites in *Vicia faba* L. leaves at low light intensities. *J. Exp. Bot.* 34: 1676–1694.
Keeling C. D. y Whorf T. P. (1994) Atmospheric CO_2 records from sites in the SIO air sampling network. En *Trends '93: A Compendium of Data on Global Change* (ORNL/CDIAC-65), T. A. Boden, D. P. Kaiser, R. J. Sepanski y F. W. Stoss, eds., Carbon Dioxide Information Center, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, págs. 16–26.
Keeling C. D., Whorf T. P., Wahlen M. y Van der Plicht J. (1995) Interannual extremes in the rate of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980. *Nature* 375: 666–670.
Koller D. (1990) Light-driven leaf movements. *Plant Cell Environ.* 13: 615–632.
Koller D. (2000) Plants in search of sunlight. *Adv. Bot. Res.* 33: 35–131.
Long S. P., Humphries S. y Falkowski P. G. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 633–662.

McCree K. J. (1981) Photosynthetically active radiation. En *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 12A, O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond y H. Zeigler, eds., Springer, Berlin, págs. 41–55.
Melis A. (1996) Excitation energy transfer: Functional and dynamic aspects of Lhc (cab) proteins. En *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, D. R. Ort and C. F. Yocum, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 523–538.
Neftel A., Friedle H., Moor E., Lötscher H., Oeschger H., Siegenthaler U. y Stauffer B. (1994) Historical CO_2 record from the Siple Station ice core. En *Trends '93: A Compendium of Data on Global Change* (ORNL/CDIAC-65), T. A. Boden, D. P. Kaiser, R. J. Sepanski y F. W. Stoss, eds., Carbon Dioxide Information Center, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, págs. 11–15.
Nishio J. N., Sun J. y Vogelmann T. C. (1993) Carbon fixation gradients across spinach leaves do not follow internal light gradient. *Plant Cell* 5: 953–961.
O'Leary M. H. (1988) Carbon isotopes in photosynthesis. *BioScience* 38: 328–333.
Ort D. R. y Baker N. R. (1988) Consideration of photosynthetic efficiency at low light as a major determinant of crop photosynthetic performance. *Plant Physiol. Biochem.* 26: 555–565.
Osmond C. B. (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. En *Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field.* N. R. Baker y J. R. Bowyer, eds., BIOS Scientific, Oxford, págs. 1–24.
Pearcy R. W., Gross L. J. y He D. (1997) An improved dynamic model of photosynthesis for estimation of carbon gain in sunfleck light regimes. *Plant Cell Environ.* 20: 411–424.
Richter T. y Fukshansky L. (1996) Optics of a bifacial leaf: 2. Light regime as affected by leaf structure and the light source. *Photochem. Photobiol.* 63: 517–527.
Rupert C. S. y Letarjet R. (1978) Toward a nomenclature and dosimetric scheme applicable to all radiations. *Photochem. Photobiol.* 28: 3–5.
Sage R. F. y Sharkey T. D. (1987) The effect of temperature on the occurrence of O_2 and CO_2 insensitive photosynthesis in field grown plants. *Plant Physiol.* 84: 658–664.
Sharkey T. D. (1996) Emission of low molecular mass hydrocarbons from plants. *Trends Plant Sci.* 1: 78–82.
Sharkey T. D. y Singsaas E. L. (1995) Why plants emit isoprene. *Nature* 374: 769.
Sharkey T. D., Chen X. y Yeh S. (2001) Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin-fed leaves. *Plant Physiol.* 125: 2001–2006.
Smith H. (1986). The perception of light quality. En *Photomorphogenesis in Plants*, R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Nijhoff, Dordrecht, Netherlands, págs. 187–217.

Smith H. (1994). Sensing the light environment: The functions of the phytochrome family. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Nijhoff, Dordrecht, Netherlands, págs. 377–416.
Syvertsen J. P., Lloyd J., McConchie C., Kriedemann P. E. y Farquhar G. D. (1995) On the relationship between leaf anatomy and CO_2 diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant Cell Environ.* 18: 149–157.
Terashima I. (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. *Photosynth. Res.* 31: 195–212.
Terashima I. y Hikosaka K. (1995) Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 18: 1111–1128.
Tlalka M. y Fricker M. (1999) The role of calcium in blue-light-dependent chloroplast movement in *Lemna trisulca* L. *Plant J.* 20: 461–473.
Vogelmann T. C. (1993) Plant tissue optics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 231–251.
Vogelmann T. C. y Björn L. O. (1983) Response to directional light by leaves of a sun-tracking lupine (*Lupinus succulentus*). *Physiol. Plant.* 59: 533–538.
Vogelmann T. C. y Han T. (2000) Measurement of gradients of absorbed light in spinach leaves from chlorophyll fluorescence profiles. *Plant Cell Environ.* 23: 1303–1311.
Vogelmann T. C., Bornman J. F. y Yates D. J. (1996) Focusing of light by leaf epidermal cells. *Physiol. Plant.* 98: 43–56.
von Caemmerer S. (2000) *Biochemical Models of Leaf Photosynthesis*. CSIRO, Melbourne, Australia.

Capítulo 10

TRANSPORTE EN EL FLOEMA

LA SUPERVIVENCIA EN LA TIERRA SUPUSO DESAFÍOS SERIOS para las plantas: el más importante fue la necesidad de incorporar y retener el agua. En respuesta a estas presiones ambientales, las plantas desarrollaron raíces y hojas. Las raíces anclan a la planta y absorben el agua y los nutrientes; las hojas absorben la luz y realizan el intercambio gaseoso. A medida que las plantas aumentaron de tamaño, hojas y raíces quedaron muy separadas entre sí. Así, han desarrollado sistemas de transporte a larga distancia que permiten al vástago y a la raíz el intercambio eficiente de los productos de absorción y de asimilación.

Recordaremos de los capítulos 4 y 6 que el xilema es el tejido que transporta el agua y los minerales desde el sistema radical a la parte aérea de la planta. El **floema** es el tejido que transporta los productos de la fotosíntesis desde las hojas maduras a las zonas de crecimiento y reserva, incluyendo las raíces. Como veremos, el floema también sirve para redistribuir el agua y algunos compuestos a través del cuerpo de la planta. Estos compuestos, algunos de los cuales han llegado a las hojas maduras por el xilema, pueden ser transportados desde las hojas sin modificación o metabolizados antes de su redistribución.

Puesto que la mayor parte de las investigaciones se ha realizado en angiospermas, estudiaremos el transporte en el floema en este tipo de plantas. Se comparará brevemente la anatomía de las angiospermas y las gimnospermas y las posibles diferencias en su mecanismo de transporte. En primer lugar examinaremos algunos aspectos del transporte en el floema que han sido ampliamente investigados y que se consideran confirmados. Entre ellos se incluyen la ruta y patrones de transporte, los materiales transportados en el floema y las tasas de movimiento.

En la segunda parte del capítulo, exploraremos aspectos del transporte en el floema que todavía requieren más investigación. Algunos, como la carga y descarga del floema y la asignación y el reparto de los productos fotosintéticos, están siendo intensamente estudiados en la actualidad.

RUTAS DE TRANSPORTE

Las dos rutas de transporte a larga distancia, el floema y el xilema, se extienden por todo el cuerpo de la planta. El floema se encuentra generalmente en la parte exterior de los tejidos vasculares primarios y secundarios (Figuras 10.1 y 10.2). En plantas con crecimiento secundario el floema constituye la corteza interna.

Las células del floema que conducen los azúcares y otros materiales orgánicos por la planta se denominan **elementos cribosos.** El término *elemento criboso* es un término global que incluye los **elementos del tubo criboso**, altamente diferenciados y típicos de las angiospermas, y las **células cribosas** de las gimnospermas, relativamente poco especializadas. Además de los elementos cribosos, el tejido del floema contiene células de compañía (que analizaremos más adelante) y células parenquimáticas (que almacenan y liberan moléculas de reserva). En algunos casos, el tejido del floema también contiene fibras y esclereidas (para la protección y resistencia del tejido) y laticíferos (células que contienen látex). Sin embargo, sólo los elementos cribosos están directamente implicados en el transporte.

Las venas pequeñas de las hojas y los haces vasculares primarios de los tallos están rodeados por una **vaina del haz** (véase la figura 10.1), que consta de una o más capas de células compactadas ordenadamente. (Se recordará que las células de la vaina del haz están implicadas en el metabolismo C_4 analizado en el capítulo 8). En el tejido vascular de las hojas, la vaina del haz rodea las venas más pequeñas en todo su recorrido hasta su extremo, aislándolas de los espacios intercelulares de la hoja.

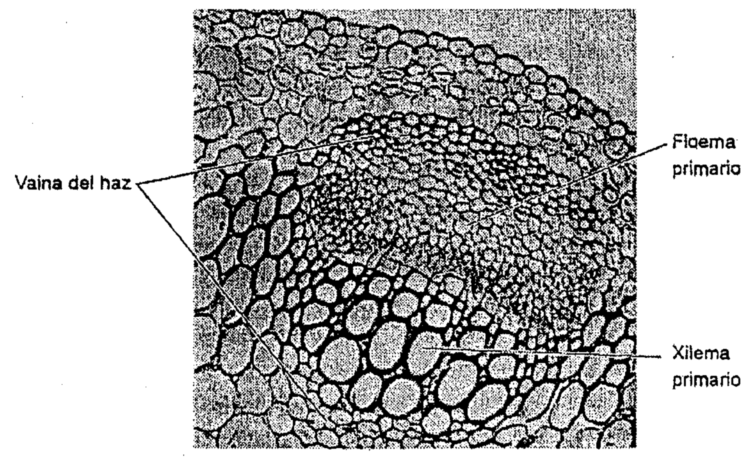


Figura 10.1 Sección transversal del haz vascular de trébol (*Trifolium*) (130×). El floema primario se encuentra en la parte exterior del tallo. Tanto el floema primario como el xilema primario están rodeados por la vaina del haz de células de esclerénquima de paredes gruesas, que separan el tejido vascular del tejido fundamental. (© J. N. A. Lott/Biological Photo Service.)

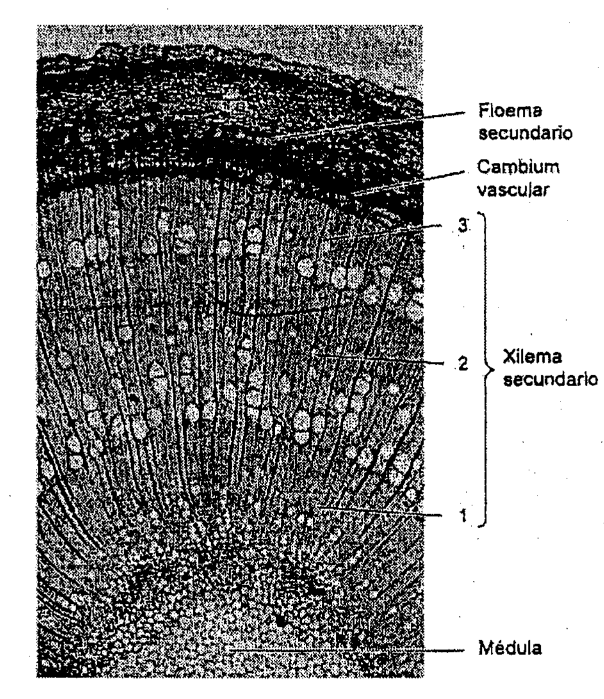


Figura 10.2 Sección transversal de un tallo de fresno (*Fraxinus excelsior*) de 3 años de edad (27×). Los números 1, 2 y 3 indican los anillos de crecimiento del xilema secundario. El floema secundario se ha aplanado por la expansión del xilema. La única capa funcional del floema secundario es la capa más reciente (la más interna). (© P. Gates/Biological Photo Service.)

Comenzaremos nuestro estudio de las rutas de transporte con las evidencias experimentales que demuestran que los elementos cribosos son las células conductoras en el floema. Examinaremos entonces la estructura y fisiología de estas células vegetales poco comunes.

El azúcar se transporta en los elementos cribosos del floema

Los primeros experimentos sobre el transporte en el floema datan del siglo diecinueve y demuestran la importancia que tiene el transporte a larga distancia en las plantas (véase el **tema web 10.1**). Estos experimentos clásicos demostraron que la eliminación de un anillo de la corteza del tronco de un árbol, que elimina el floema, detiene de forma efectiva el transporte de azúcares desde las hojas a las raíces sin alterar el transporte de agua a través del xilema. Cuando se hizo posible el uso de compuestos radiactivos, la utilización de $^{14}CO_2$ permitió demostrar que los azúcares

producidos en la fotosíntesis eran transportados por los elementos cribosos del floema (véase el **tema web 10.1**).

Los elementos cribosos maduros son células vivas altamente especializadas para el transporte

El conocimiento detallado de la ultraestructura de los elementos cribosos es esencial para cualquier análisis sobre el mecanismo de transporte en el floema. Los elementos cribosos maduros son únicos entre las células vegetales vivas (Figuras 10.3 y 10.4). Carecen de muchas estructuras que normalmente se encuentran en las células vivas, incluidas las células indiferenciadas a partir de las cuales se forman los elementos cribosos. Por ejemplo, los elementos cribosos pierden el núcleo y el tonoplasto (membrana vacuolar) durante su desarrollo. Las células maduras también carecen de microfilamentos, microtúbulos, aparato de Golgi y ribosomas. Además de la membrana plasmática, los orgánulos que se mantienen son mitocondrias modificadas, plastos y retículo endoplásmico liso. Las paredes no están lignificadas, aunque en algunos casos tienen engrosamientos secundarios.

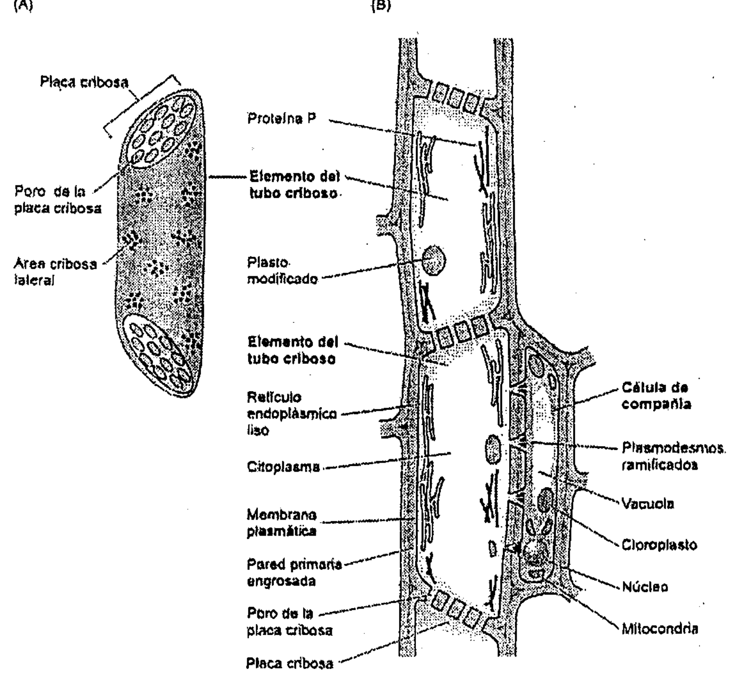


Figura 10.3 Dibujo esquemático de los elementos cribosos maduros (elementos de un tubo criboso). (A) Vista exterior que muestra las placas cribosas y las áreas cribosas laterales. (B) Sección longitudinal que muestra dos elementos de un tubo criboso unidos para formar un tubo criboso. Los poros en las placas cribosas entre los miembros de un tubo criboso son canales abiertos para el transporte a lo largo de un tubo criboso. Cada miembro de un tubo criboso está asociado con una o más células de compañía, que asume alguna de las funciones metabólicas que fueron reducidas o perdidas durante la diferenciación de los elementos del tubo criboso. Obsérvese que las células de compañía están enriquecidas en orgánulos citoplasmáticos, mientras que los miembros de un tubo criboso tienen relativamente pocos orgánulos. Se representa aquí una célula de compañía común.

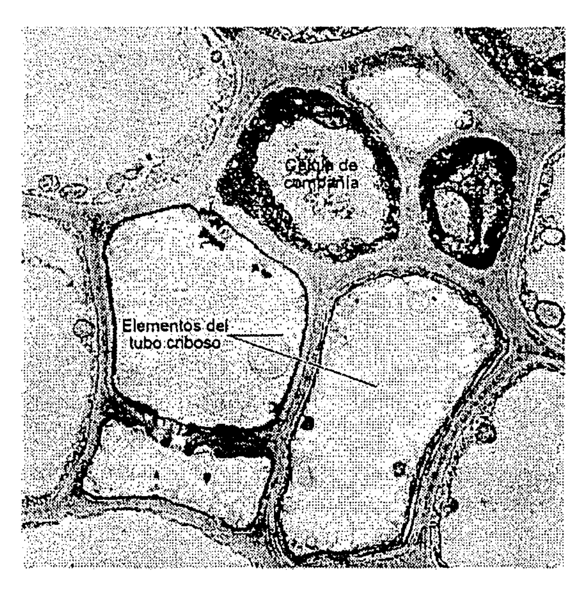


Figura 10.4 Micrografía electrónica de una sección transversal de células de compañía y elementos de un tubo criboso maduro (3600x). Los componentes celulares están distribuidos a lo largo de las paredes de los elementos del tubo criboso. (Según Warmbrodt 1985.)

Así, los elementos cribosos tienen una estructura celular diferente de los elementos traqueales del xilema (muertos en su madurez), que carecen de membrana plasmática y tienen paredes secundarias lignificadas. Como veremos, las células vivas son fundamentales para el mecanismo de transporte por el floema.

La característica más importante de los elementos cribosos es la presencia de áreas cribosas

Los elementos cribosos (células cribosas y elementos del tubo criboso) tienen áreas cribosas características en sus paredes celulares, con poros que interconectan las células conductoras (véase la figura 10.5). Los poros del área cribosa tienen un

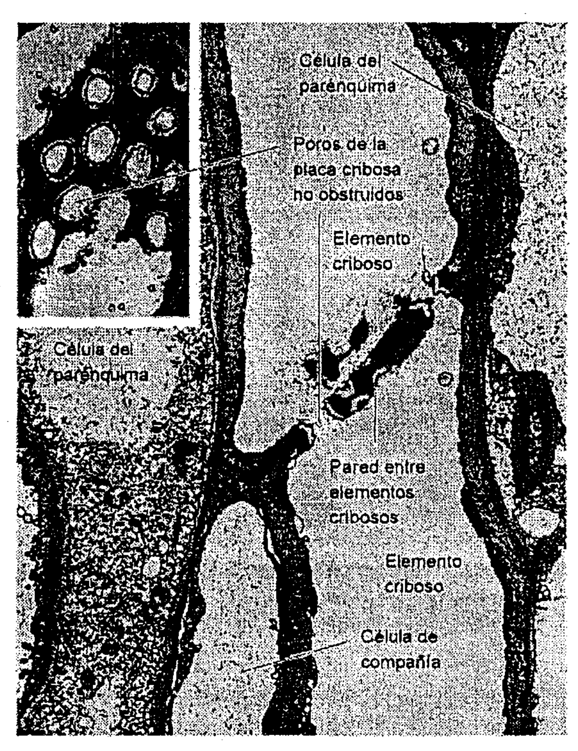


Figura 10.5 Elementos cribosos y poros abiertos de una placa cribosa. (A) Micrografía electrónica de una sección longitudinal de dos elementos cribosos maduros (elementos de tubo criboso), mostrando la pared entre los elementos cribosos (llamada placa cribosa) en el hipocotilo de calabaza (*Cucurbita maxima*) (3685×). (B) El recuadro interior muestra los poros de la placa cribosa en una vista frontal (4280×). En ambas imágenes, los poros de la placa cribosa están abiertos, es decir, no están obstruidos por proteína P. (Según Evert 1982.)

diámetro entre 1 μm y 15 μm aproximadamente. A diferencia de las áreas cribosas de las gimnospermas, las áreas cribosas de las angiospermas se pueden diferenciar en **placas cribosas** (véase la figura 10.5 y la tabla 10.1).

Las placas cribosas tienen poros más grandes que las áreas cribosas y se encuentran generalmente en las paredes terminales de los elementos del tubo criboso, donde se unen las células individuales para formar una serie longitudinal llamada **tubo criboso** (véase la figura 10.3). Además los poros de las placas cribosas de los elementos del tubo criboso son canales abiertos que permiten el transporte entre células (véase la figura 10.5).

Por el contrario, todas las áreas cribosas son más o menos iguales en gimnospermas, como las coníferas. Los poros de las áreas cribosas de las gimnospermas se

TABLA 10.1
Características de los dos tipos de elementos cribosos en las fanerógamas

Elementos del tubo criboso de angiospermas
1. Algunas áreas cribosas se diferencian en placas cribosas; los elementos individuales del tubo criboso se reúnen en un tubo criboso.
2. Los poros de las placas cribosas son canales abiertos.
3. La proteína P está presente en las dicotiledóneas y en muchas monocotiledóneas.
4. Las células de compañía son fuentes de ATP y quizás de otros compuestos y, en algunas especies, son células intermediarias.
Células cribosas de gimnospermas
1. No tienen placas cribosas; todas las áreas cribosas son similares.
2. Los poros en las áreas cribosas aparecen bloqueados con membranas.
3. No tienen proteína P.
4. Con frecuencia, la función de las células albuminoideas es de células de compañía.

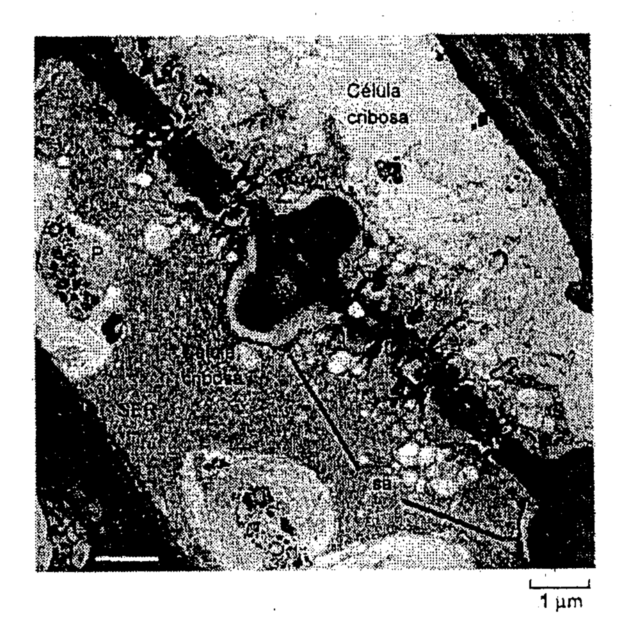


Figura 10.6 Micrografía electrónica que muestra un área cribosa (sa) uniendo dos células cribosas de una conífera (*Pinus resinosa*). El retículo endoplásmico liso (SER) cubre el área cribosa y también se encuentra en los poros y en la extensa cavidad media. Los plastos (P) se encuentran encerrados por el RE (Según Schulz 1990.)

encuentran en grandes cavidades en la región central de sus paredes. El retículo endoplásmico liso cubre las áreas cribosas (Figura 10.6) y es continuo a través de los poros y la cavidad media, como indica la tinción específica del RE. Observaciones de material vivo con microscopía de barrido láser confocal confirman que la distribución observada del retículo endoplásmico liso no es un artefacto de la fijación (Schulz 1992).

Los depósitos de proteína P y calosa sellan los elementos cribosos dañados

Los elementos de los tubos cribosos de la mayoría de las angiospermas suelen ser ricos en una proteína del floema llamada **proteína P** (véase la figura 10.3B) (Clark y col. 1997). (En la literatura clásica la proteína P se denominaba *mucílago)*. La proteína P se encuentra en todas las dicotiledóneas y en muchas monocotiledóneas, pero no en gimnospermas. Se presenta en diferentes formas (tubular, fibrilar, granular y cristalina), dependiendo de las especies y del grado de madurez de la célula.

En las células inmaduras, la proteína P se encuentra frecuentemente como cuerpos discretos en el citosol conocidos como **cuerpos de proteína P**. Estos cuerpos de proteína P pueden ser esféricos, con forma de huso o trenzado y en forma de ovillo. Generalmente, se dispersan en las formas tubular o fibrilar durante la maduración celular.

Las proteínas P se han caracterizado a nivel molecular. Por ejemplo, las proteínas P del género *Cucurbita* constan de dos proteínas principales: PP1, la proteína filamentosa del floema, y PP2, la lectina del floema. El gen que codifica la PP1 en calabaza (*Cucurbita maxima*) tiene similitud de secuencia con genes que codifican inhibidores de cisteína proteasas, sugiriendo una posible función en la defensa frente a insectos que se alimentan del floema. Se cree que tanto PP1 como PP2 se sintetizan en las células de compañía (analizadas en la sección siguiente) y son transportadas, vía plasmodesmos, a los elementos cribosos, donde se asocian para formar los filamentos de proteína P y los cuerpos de proteína P (Clark y col. 1997).

La proteína P parece actuar en el sellado de los elementos cribosos dañados, taponando los poros de las placas cribosas. Los tubos cribosos están sometidos a una presión de turgencia interna alta y los elementos cribosos de un tubo criboso están conectados a través de los poros abiertos de las placas cribosas. Cuando se corta o se pincha un tubo criboso, la pérdida de presión provoca la salida del contenido de los elementos cribosos hacia el extremo cortado, por lo que, si no existiera un mecanismo de cierre, la planta perdería mucha savia del floema, rica en azúcares. (*Savia* es el término general utilizado para referirse al contenido fluido de las células vegetales). Cuando se produce dicha perdida de proteína, la proteína P y otras inclusiones

celulares quedan atrapadas en los poros de las placas cribosas, ayudando a sellar el elemento criboso y a prevenir posteriores pérdidas de savia.

Una solución a largo plazo para el daño en el tubo criboso es la producción de **calosa** en los poros cribosos. La calosa, un β-1,3-glucano, es sintetizada por un enzima en la membrana plasmática y se deposita entre la membrana plasmática y la pared celular. La calosa se sintetiza en los elementos cribosos funcionales en respuesta a heridas y a otras situaciones de estrés, como la estimulación mecánica y temperaturas elevadas, o como preparación para procesos normales del desarrollo, como la latencia. La deposición de **calosa de herida** en los poros cribosos aísla eficientemente los elementos cribosos dañados del tejido intacto que los rodea. Cuando los elementos cribosos se recuperan del daño, la calosa desaparece de estos poros.

Las células de compañía ayudan a los elementos cribosos altamente especializados

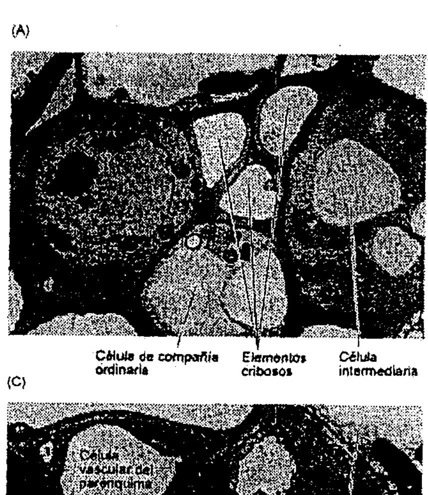
Cada elemento del tubo criboso está asociado con una o más **células de compañía** (véanse las figuras 10.3B, 10.4 y 10.5). El elemento del tubo criboso y la célula de compañía se forman por la división de una única célula madre. En las paredes entre los elementos cribosos y sus células de compañía existen numerosos plasmodesmos (véase el capítulo 1), lo que sugiere que hay una estrecha relación funcional y un eficaz intercambio de solutos entre las dos células. Los plasmodesmos suelen ser complejos y se ramifican por el lado de las células de compañía.

Las células de compañía participan en el transporte de los productos fotosintéticos desde las células productoras en las hojas maduras a los elementos cribosos en las venas menores (pequeñas) de la hoja. Se cree que las células de compañía llevan a cabo algunas de las funciones esenciales del metabolismo, como la síntesis de proteínas, que se ve reducida o incluso se pierde durante la diferenciación de los elementos cribosos (Bostwick y col. 1992). Además, las numerosas mitocondrias de las células de compañía pueden aportar energía en forma de ATP a los elementos cribosos.

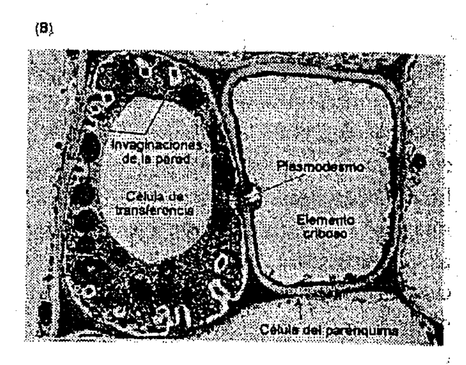
Hay al menos tres tipos diferentes de células de compañía en las venas menores de las hojas maduras: células de compañía «ordinarias», células de transferencia y células intermediarias. Los tres tipos de células tienen un citoplasma denso y con abundantes mitocondrias.

Las **células de compañía ordinarias** (Figura 10.7A) tienen cloroplastos con tilacoides bien desarrollados y una pared celular con una superficie interna lisa. Hay que destacar que este tipo de célula de compañía tiene pocos plasmodesmos de conexión con otras células adyacentes, excepto con su propio elemento criboso. Como consecuencia, el simplasto del elemento criboso y su célula de compañía está prácticamente aislada del simplasto de las células vecinas.

(A)



(B)



(C)

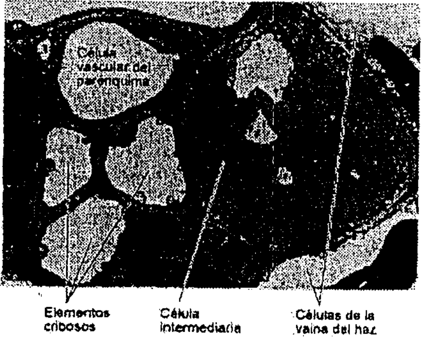


Figura 10.7 Micrografías electrónicas de células de compañía en venas menores de hojas maduras. (A) Tres elementos cribosos entre dos células intermediarias y una célula de compañía ordinaria ligeramente más teñida en una vena menor de *Mimulus cardinales* (6585×). (B) Un elemento criboso adyacente a una célula de transferencia con numerosas invaginaciones en la pared en guisante (*Pisum sativum*) (8020×). Estos crecimientos incrementan mucho la superficie de la membrana plasmática de la célula, aumentando así la transferencia de materiales desde el mesofilo a los elementos cribosos. (C) Una célula intermediaria típica con numerosos plasmodesmos (flechas) conectando con las células vecinas de la vaina del haz, estos plasmodesmos están ramificados a ambos lados, aunque las ramificaciones son más largas y más estrechas en el lado de la célula intermediaria. El floema de la vena menor fue tomado del centro de una hoja de *Alonsoa warscewiczii* (4700×). (A y C según Turgeon y col. 1993, cortesía de R. Turgeon; B según Brentwood 1978.)

Las **células de transferencia** son similares a las células de compañía ordinarias, excepto por el desarrollo de invaginaciones en las paredes con forma de dedos, sobre todo en las paredes celulares opuestas al elemento criboso (Figura 10.7B). Estas invaginaciones de la pared incrementan mucho la superficie de la membrana plasmática, aumentando así el potencial para la transferencia de solutos a través de la membrana.

Debido a la escasez de conexiones citoplásmicas con las células vecinas y a las invaginaciones de la pared de las células de transferencia, se cree que las células de

compañía ordinarias y las células de transferencia están especializadas en la incorporación de solutos desde el apoplasto o espacio de la pared celular. Las células del parénquima xilemático también pueden estar modificadas como células de transferencia, probablemente para recuperar y desviar los solutos que se mueven en el xilema, que es también parte del apoplasto.

Aunque las células de compañía ordinarias y las células de transferencia están relativamente aisladas simplásticamente de las células de su entorno, en las paredes de estas células hay algunos plasmodesmos. La función de estos plasmodesmos se desconoce. El hecho de que estén presentes indica que deben tener una función importante, dado que tenerlos supone un alto coste: son las avenidas por las que los virus llegan a ser sistémicos en la planta. No obstante, son difíciles de estudiar debido a su inaccesibilidad.

Las **células intermediarias** parecen estar bien preparadas para la incorporación de solutos a través de las conexiones citoplásmicas (Figura 10.7C). Las células intermediarias tienen numerosos plasmodesmos que las conectan a las células vecinas, sobre todo a las células de la vaina del haz. Aunque la principal característica de las células intermediarias es la presencia de numerosas conexiones plasmodésmicas con las células que las rodean, también tienen como rasgo distintivo, la presencia de numerosas vacuolas pequeñas, así como tilacoides pobremente desarrollados y la ausencia de granos de almidón en los cloroplastos.

En general, las células de compañía ordinarias y las células de transferencia se encuentran en plantas que se caracterizan por una etapa apoplástica en la transferencia de azúcares desde las células del mesofilo a los elementos cribosos. Las células de compañía y las células de transferencia suministran azúcares desde el apoplasto al simplasto de los elementos cribosos en la fuente. Por otro lado, las células intermediarias funcionan en el transporte simplástico de azúcares desde las células del mesofilo a los elementos cribosos en plantas, donde no parece haber un transporte apoplástico en la hoja fuente.

PATRONES DE TRANSPORTE: FUENTE A SUMIDERO

En el floema la savia no se desplaza exclusivamente en un único sentido, ascendente o descendente, por lo que el transporte en el floema no está definido respecto a la gravedad. La savia se mueve desde las áreas de aporte, llamadas *fuentes*, a las áreas de metabolismo o almacenamiento, llamadas *sumideros*.

Las **fuentes** son cualquier órgano de exportación, normalmente hojas maduras, capaz de producir fotoasimilados en exceso, respecto a sus necesidades. El término *fotoasimilado* se refiere a los productos de la fotosíntesis. Otro tipo de fuente es un órgano de reserva de los productos durante la fase de exportación en su ciclo de

desarrollo. Por ejemplo, la raíz de *Beta maritima* (una remolacha bienal silvestre) es un sumidero (órgano de reserva) durante la época de crecimiento en el primer año, ya que acumula azúcares que recibe de las hojas fuente. Durante la segunda estación de crecimiento, la misma raíz se convierte en fuente; los azúcares son removilizados y empleados para producir un nuevo brote, que, finalmente, se convierte en reproductivo.

Es interesante destacar que las especies cultivadas de remolacha han sido seleccionadas por la capacidad de sus raíces de actuar como sumideros durante todas las fases de desarrollo. Así, las raíces de la remolacha azucarera cultivada (*Beta vulgaris*) pueden aumentar su peso seco durante la primera y segunda estación de crecimiento, por lo que las hojas actúan como fuente durante las etapas de floración y fructificación.

Los **sumideros** incluyen cualquier órgano no fotosintético de la planta, así como los órganos que no producen suficientes productos fotosintéticos como para mantener su propio crecimiento o sus necesidades de almacenamiento. Ejemplos de sumideros son raíces, tubérculos, frutos en desarrollo y hojas inmaduras, ya que necesitan importar carbohidratos para su desarrollo normal. Los resultados de experimentos de anillado y marcaje apoyan el patrón de transporte de fuente a sumidero en el floema.

Las rutas de fuente a sumidero siguen patrones anatómicos y de desarrollo

Aunque el patrón de transporte en el floema puede ser reducido al movimiento de fuentes a sumideros, las rutas específicas implicadas son con frecuencia más complejas. No todas las fuentes suministran a todos los sumideros de la planta; más bien, algunas fuentes suministran preferentemente a sumideros específicos. En el caso de plantas herbáceas, como remolacha o soja, se pueden admitir las siguientes generalizaciones:

Proximidad. La proximidad de la fuente al sumidero es un factor importante. Las hojas maduras de la parte superior del tallo normalmente proporcionan fotoasimilados al ápice del brote en crecimiento y a las hojas jóvenes inmaduras; las hojas de la parte inferior del tallo aportan fotoasimilados sobre todo al sistema radical. Las hojas intermedias exportan en ambas direcciones, pero sin suministrar a las hojas maduras en su recorrido.

Desarrollo. La importancia de los sumideros puede cambiar durante el desarrollo de la planta. Mientras los ápices de las raíces y del brote son normalmente los principales sumideros durante el desarrollo vegetativo, los frutos se convierten en los principales sumideros durante el desarrollo reproductivo, sobre todo para las hojas adyacentes y cercanas.

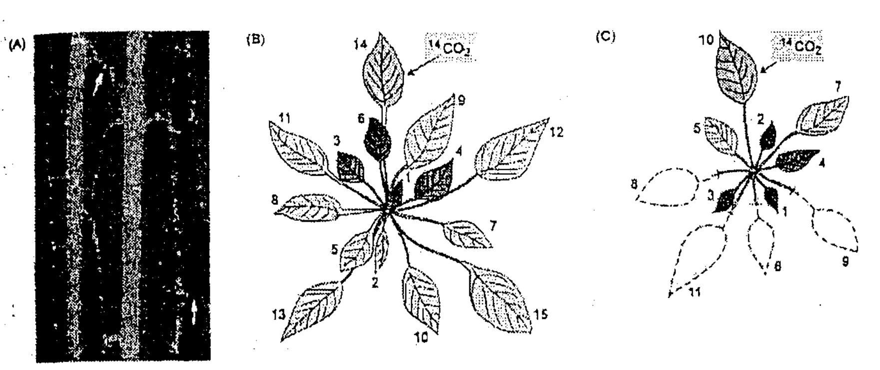


Figura 10.8 (A) Vista longitudinal de la estructura tridimensional típica del floema en una sección de un entrenudo de dalia [*Dahlia pinnata*]. Imagen obtenida con un microscopio de epifluorescencia, después de teñirla con anilina azul y aclararla; las placas cribosas se ven como numerosas y manchas pequeñas por la tinción amarilla de la calosa de las áreas cribosas. Esta tinción revela los delicados tubos cribosos que forman la red del floema; se muestran (con flechas) dos anastomosis del floema. (B) Distribución de la radiactividad en una planta intacta con una única hoja fuente marcada. Se determinó la distribución de la radiactividad de las hojas de una planta de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) una semana después de que se aplicara $^{14}CO_2$ durante 4 horas a una única hoja fuente (flecha). El grado de la señal radiactiva está indicado por la intensidad del color de las hojas. Las hojas están numeradas de acuerdo con su edad, siendo la más joven la que se designa con el número 1. El ^{14}C marcado fue transportado principalmente a las hojas sumidero situadas directamente sobre la hoja fuente (es decir, las hojas sumidero en el mismo ortóstico que la fuente; por ejemplo las hojas 1 y 6 son hojas sumidero directamente sobre la hoja fuente 14). (C) El mismo experimento que en B excepto que todas las hojas fuente de un lado de la planta, opuestas a la hoja marcada, se eliminaron 24 horas antes del marcaje. Las hojas fuente de ambos lados de la planta reciben de la fuente los asimilados marcados con ^{14}C de la fuente. (A cortesía de R. Aloni; B y C basadas en datos de Joy 1964.)

Conexiones vasculares. Las hojas fuente aportan asimilados preferentemente a sumideros con los que tienen conexiones vasculares directas. En el vástago, por ejemplo, una hoja dada suele estar conectada a través del sistema vascular a otras hojas que están directamente encima y debajo de ella en el tallo. Esta distribución vertical de las hojas se denomina **ortóstico**. El número de entrenudos entre hojas en el mismo ortóstico varía según la especie. La figura 10.8A muestra la estructura tridimensional del floema en un entrenudo de dalia (*Dalia pinnata*).

Modificaciones de las rutas de transporte. Las interferencias por una poda o una herida sobre la ruta de transporte pueden alterar los patrones establecidos por proximidad y las conexiones vasculares que hemos descrito. En ausencia de conexiones directas entre fuentes y sumideros, las conexiones intervasculares, llamadas **anastomosis** (véase la figura 10.8A), pueden proporcionar una ruta alternativa. En la remolacha azucarera, por

ejemplo, la eliminación de las hojas fuente de un lado de la planta puede provocar el transporte cruzado de fotoasimilados a las hojas jóvenes (hojas sumidero) de la zona podada (Figura 10.8C). La eliminación de las hojas fuente de la parte inferior puede forzar a las hojas fuente de la parte superior de la planta a transportar materiales a las raíces, y la eliminación de las hojas fuente de la parte superior puede forzar a las hojas fuente de la parte inferior de la planta a transportar materiales a las parte superior de la planta.

La plasticidad de la ruta de transporte depende de la extensión de las interconexiones entre haces vasculares y, por lo tanto, de las especies y órganos estudiados. En algunas especies, las hojas de una rama sin fruto no pueden transportar fotoasimilados a los frutos de una rama adyacente defoliada. Pero en otras plantas, como las de soja (*Glycine max*), los fotoasimilados son transferidos rápidamente desde el lado sin frutos al lado parcialmente defoliado.

MATERIALES TRANSPORTADOS POR EL FLOEMA: SACAROSA, AMINOÁCIDOS, HORMONAS Y ALGUNOS IONES INORGÁNICOS

El agua es la sustancia más abundantemente transportada por el floema. Los solutos transportados, principalmente carbohidratos, están disueltos en el agua (Tabla 10.2). La sacarosa es el azúcar que más frecuentemente se transporta en los elementos cribosos. Hay siempre sacarosa en la savia de un elemento criboso y su concentración puede variar entre 0,3 y 0,9 M.

El nitrógeno se encuentra en el floema fundamentalmente en forma de aminoácidos y amidas, especialmente glutamato y aspartato y sus respectivas amidas, glutamina y asparragina. Los niveles de aminoácidos y ácidos orgánicos varían mucho, incluso en la misma especie, aunque normalmente sus niveles son inferiores a los de los carbohidratos.

TABLA 10.2
La composición de la savia del floema de ricino (*Ricinus communis*) recogido como exudado de incisiones en el floema

Componente	Concentración (mg mL^{-1})
Azúcares	80,0 – 106,0
Aminoácidos	5,2
Ácidos orgánicos	2,0 – 3,2
Proteínas	1,45 – 2,20
Potasio	2,3 – 4,4
Cloruro	0,355 – 0,675
Fosfato	0,350 – 0,550
Magnesio	0,109 – 0,122

Fuente: Hall y Baker (1972)

En los elementos cribosos se han encontrado casi todas las hormonas vegetales endógenas, incluidas auxinas, giberelinas, citoquininas y ácido abscísico (véanse los capítulos 19, 20, 21 y 23). Se cree que el transporte de las hormonas a larga distancia se produce, al menos parcialmente, por los elementos cribosos. Los nucleótidos fosfato y proteínas también están presentes en la savia del floema.

Entre las proteínas encontradas en el floema están los filamentos de proteína P (que están implicados en el sellado de los elementos cribosos dañados), proteína quinasas (fosforilación de proteínas), tiorredoxina (reducción de puentes disulfuro), ubiquitina (reciclado de proteínas), chaperonas (plegamiento de proteínas) e inhibidores de proteasas (protección del floema contra la degradación y defensa contra los insectos que se alimentan del floema) (Schobert y col. 1995; Yoo y col. 2000).

Los solutos inorgánicos que se mueven por el floema son potasio, magnesio, fosfato y cloruro (véase la tabla 10.2). Por el contrario, nitrato, calcio, azufre y hierro son relativamente inmóviles en el floema.

Empezaremos el análisis del contenido del floema destacando los métodos empleados para identificar los materiales transportados por el floema. Examinaremos a continuación los azúcares transportados y la complejidad del transporte de nitrógeno en la planta.

La savia del floema puede ser recogida y analizada

La recogida de la savia del floema ha sido un auténtico desafío experimental (véase el **tema web 10.2**). Sólo hay algunas especies que exudan la savia por las heridas, haciendo posible la obtención de muestras relativamente puras de la savia del floema. Otro procedimiento es el uso del estilete de un áfido como «jeringuilla natural».

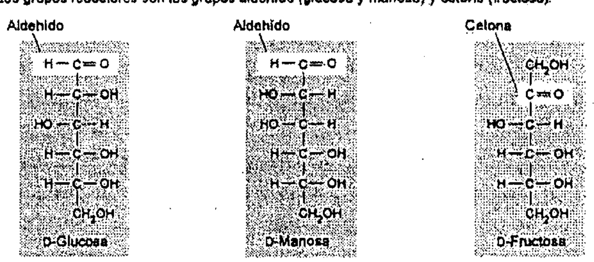
Los áfidos son unos pequeños insectos que se alimentan introduciendo sus órganos bucales, que constan de cuatro estiletes tubulares, en un elemento criboso de una hoja o tallo. El fluido puede ser recogido de los estiletes de los áfidos, cortándolos del cuerpo del insecto, normalmente con un láser, tras haber sido anestesiado con CO_2. La elevada presión de turgencia en el elemento criboso fuerza al contenido de la célula a pasar a través del estilete al extremo cortado, donde puede ser recogido. El exudado de varios estiletes proporciona una idea bastante precisa de la composición de la savia del floema (véase el **tema web 10.2**). La exudación desde los estiletes cortados puede durar varias horas, lo que sugiere que el áfido evita la acción de los mecanismos de sellado de la planta.

Los azúcares son transportados en la forma no reductora

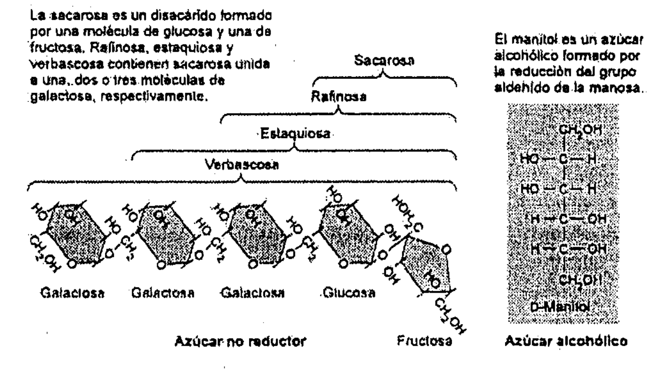
Los resultados de los análisis de la savia recogida indican que los carbohidratos que se transportan son azúcares no reductores. Los azúcares reductores, como glu-

(A) Azúcares reductores que normalmente no son transportados en el floema

Los grupos reductores son los grupos aldehído (glucosa y manosa) y cetona (fructosa).



(B) Compuestos que suelen ser transportados en el floema



El manitol es un azúcar alcohólico formado por la reducción del grupo aldehído de la manosa.

D-Manitol

Azúcar alcohólico

El ácido glutámico, un aminoácido, y la glutamina, su amida, son compuestos nitrogenados importantes en el floema, además del aspartato y la asparragina.

Ácido glutámico — Glutamina

Aminoácido — Amida

Las especies con nódulos fijadores de nitrógeno también utilizan los ureidos como formas de transporte de nitrógeno.

Ácido alantoico — Alantoína — Citrulina

Ureidos

Figura 10.9 Estructura de compuestos que normalmente no son transportados en el floema (A) y otros que normalmente son transportados en el floema (B).

cosa y fructosa, contienen un grupo aldehído o cetona libre (Figura 10.9A). En un azúcar no reductor, como la sacarosa, el grupo cetona o aldehído está reducido a alcohol o combinado con otro grupo similar de otro azúcar (Figura 10.9B). Muchos investigadores creen que los azúcares no reductores son los que se transportan principalmente por el floema debido a que son menos reactivos que los compuestos reductores.

La sacarosa es el principal azúcar que se transporta; muchos de los carbohidratos móviles contienen sacarosa unida a varias moléculas de galactosa. La rafinosa está formada por una molécula de sacarosa unida a una galactosa; la estaquinosa por una sacarosa unida a dos moléculas de galactosa y la verbascosa, por una sacarosa unida a tres moléculas de galactosa (véase la figura 10.9B). Los polialcoholes transportados son manitol y sorbitol.

El floema y el xilema interactúan para transportar compuestos nitrogenados

El nitrógeno se transporta por toda la planta tanto en su forma inorgánica como en la forma orgánica; la forma que predomina depende de varios factores, incluida la ruta de transporte. Mientras que el nitrógeno se transporta por el floema fundamentalmente en su forma orgánica, éste puede ser transportado por el xilema en forma de nitrato o como componente de una molécula orgánica (véase el capítulo 12). Normalmente, el mismo grupo de moléculas orgánicas transporta el nitrógeno por el xilema y por el floema.

La forma en la que se transporta el nitrógeno por el xilema depende de la especie estudiada. Las especies que no forman asociaciones simbióticas con microorganismos fijadores del nitrógeno dependen del nitrato presente en el suelo como fuente principal de nitrógeno (véase el capítulo 12). En el xilema de estas especies, el nitrógeno se presenta normalmente tanto en forma de nitrato como de moléculas orgánicas ricas en nitrógeno, sobre todo las amidas asparragina y glutamina (Figura 10.9B).

Las especies con nódulos fijadores de nitrógeno en sus raíces (véase el capítulo 12) dependen del nitrógeno atmosférico y no del nitrato del suelo, como principal fuente de nitrógeno. Después de pasar a la forma orgánica, este nitrógeno se transporta por el xilema al vástago, normalmente en forma de amidas o ureidos, tales como alantoína, ácido alantoico o citrulina (véase la figura 10.9B).

Si el nitrógeno se incorpora a compuestos orgánicos en las raíces, tanto la energía como los esqueletos carbonados necesarios para su incorporación derivan de los fotoasimilados transportados a las raíces a través del floema. Los niveles de nitrógeno en las hojas maduras son bastante estables, lo que indica que al menos una parte del exceso de nitrógeno que llega continuamente a través del xilema es redistribuido por

el floema a los frutos y hojas más jóvenes. (Véase el **tema web 10.3** para información sobre el transporte de nitrógeno en soja.)

Por último, los niveles de compuestos nitrogenados del floema son más elevados durante la senescencia de las hojas. En las especies leñosas, las hojas senescentes movilizan y exportan compuestos nitrogenados a los tejidos leñosos para su almacenamiento; en las plantas herbáceas, el nitrógeno normalmente se exporta a las semillas. Otros solutos, como los iones minerales, son redistribuidos del mismo modo desde las hojas senescentes.

TASAS DE MOVIMIENTO

La tasa de movimiento de los materiales en los elementos cribosos puede expresarse de dos maneras: como **velocidad**, la distancia lineal recorrida por unidad de tiempo, o como **tasa de transferencia de masa**, la cantidad de material que pasa a través de una determinada sección transversal de floema o elementos cribosos por unidad de tiempo. Se prefiere expresar la transferencia de masa por unidad de sección transversal de los elementos cribosos, ya que los elementos cribosos son las células conductoras del floema. Los valores de tasa de transferencia de masa varían entre 1 y 15 g h^{-1} cm^{-2} en los elementos cribosos (véase el **tema web 10.4**).

En las primeras publicaciones sobre las tasas de transporte por el floema las unidades de velocidad fueron en centímetros por hora (cm h^{-1}), mientras las unidades de transferencia de masa eran gramos por hora por centímetro cuadrado de floema o de elementos cribosos (g h^{-1} cm^{-2}). Las unidades que se prefieren actualmente (unidades del SI) son metros (m) o milímetros (mm) para la longitud, segundos (s) para el tiempo y kilogramos (kg) para la masa.

Las velocidades de transporte en el floema exceden ampliamente a las de difusión

Tanto la velocidad como la tasa de transferencia de masa se pueden medir con marcadores radiactivos. (Los métodos de medida de tasas de transferencia de masa se describen en el **tema web 10.4**). En el experimento más sencillo para medir la velocidad, se aplica CO_2 marcado con ^{11}C o con ^{14}C a una hoja fuente durante un breve período de tiempo (un pulso de marcaje) y la llegada de la marca al tejido sumidero o a algún punto concreto a lo largo de la ruta puede seguirse con un detector apropiado.

La longitud de la ruta de transporte dividida por el intervalo de tiempo necesario para que el marcaje sea detectado en el sumidero nos da una medida de la velocidad. Una medida más precisa se obtiene mediante el seguimiento de la llegada de la marca a dos puntos a lo largo de la ruta. Este método excluye de la medida el tiempo necesario para la fijación del carbono marcado por fotosíntesis, para su incorporación en los azúcares de transporte y para la acumulación del azúcar en los elementos cribosos de la hoja fuente.

En general, las velocidades medidas con diferentes técnicas dan un promedio de 1 m h^{-1} y el rango va desde 0,3 a 1,5 m h^{-1} (30-150 cm h^{-1}). Las velocidades de transporte por el floema son bastante altas y exceden la velocidad de difusión a través de largas distancias. Cualquier mecanismo propuesto para el transporte por el floema debe tener en cuenta estas altas velocidades.

EL MECANISMO DE TRANSPORTE POR EL FLOEMA

El mecanismo de transporte por el floema en las angiospermas se explica bien por el **modelo de flujo de presión** que concuerda con la mayoría de los datos experimentales y estructurales actualmente disponibles. Veremos en este análisis que el modelo de flujo de presión explica el transporte por el floema como un flujo de solución (flujo másico) dirigido por un gradiente de presión generado osmóticamente entre la fuente y el sumidero.

En las primeras investigaciones sobre el transporte por el floema se consideraron mecanismos activos y pasivos. Todas las teorías, tanto las activas como las pasivas, implicaban un requerimiento energético en las fuentes y los sumideros. En las fuentes, la energía es necesaria para mover los fotoasimilados desde las células productoras a los elementos cribosos. Este movimiento de fotoasimilados se denomina *carga del floema* y lo analizaremos más adelante en este capítulo. En los sumideros la energía es esencial para algunos aspectos del movimiento desde los elementos cribosos a las células sumidero, que son las que almacenan o metabolizan el azúcar. Este movimiento de fotoasimilados desde los elementos cribosos a las células sumidero se denomina *descarga del floema* y se analizará también más adelante.

Los mecanismos pasivos de transporte en el floema además asumen que la energía en los elementos cribosos de la ruta entre las fuentes y los sumideros solamente es necesaria para mantener algunas estructuras como la membrana plasmática y recuperar los azúcares perdidos por permeabilidad durante la carga del floema. El modelo de flujo de presión es un ejemplo de mecanismo pasivo. Por otro lado, las teorías activas postulan un requerimiento adicional de energía en los elementos cribosos de la ruta para dirigir el transporte (Zimmermann y Milburns 1975).

Un gradiente de presión dirige el transporte

La difusión es demasiado lenta para explicar las velocidades del movimiento de solutos observadas en el floema. La tasa promedio del transporte es de 1 m h^{-1}, mientras que la tasa de difusión es de ¡1 metro cada 32 años! (Véase el capítulo 3 para un análisis sobre las velocidades de difusión y las distancias sobre las que la difusión es un mecanismo de trasporte efectivo.)

El **modelo de flujo de presión** propuesto por primera vez por Ernst Münch en 1930, propone que el flujo de la solución en los elementos cribosos está dirigido por un *gradiente de presión* entre la fuente y el sumidero ($\Delta\Psi_P$), que es generado osmóticamente. El gradiente de presión se establece como consecuencia de la carga del floema en la fuente y la descarga del floema en el sumidero.

Recordemos del capítulo 3 (Ecuación 3.6) que $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_P$, es decir, $\Psi_P = \Psi_w - \Psi_s$. En los tejidos fuente, la carga del floema, que consume energía, conduce a la acumulación de azúcares en los elementos cribosos, generando un potencial de solutos bajo (negativo) ($\Delta\Psi_s$) y provocando una caída escalonada en el potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$). En respuesta al gradiente del potencial hídrico, el agua entra en los elementos cribosos y provoca el aumento de la presión de turgencia (Ψ_P).

En el otro extremo de la ruta de transporte, la descarga del floema da lugar a una reducción de la concentración de azúcares en los elementos cribosos, generando un potencial osmótico mayor (más positivo) en los elementos cribosos de los tejidos sumidero. Como el potencial hídrico es mayor en el floema que en el xilema, el agua tiende a salir del floema en respuesta al gradiente de potencial hídrico, provocando el descenso de la presión de turgencia en los elementos cribosos del sumidero. La figura 10.10 ilustra la hipótesis de flujo de presión.

Si no hubiera paredes transversales en la ruta de transporte, es decir, si toda la ruta fuera un único compartimento de membrana, las diferentes presiones presentes en el sumidero y la fuente alcanzarían rápidamente el equilibrio. La presencia de las placas cribosas aumenta fuertemente la resistencia a lo largo de la ruta y provoca la generación y el mantenimiento de un gradiente de presión importante en los elementos cribosos entre la fuente y el sumidero. El contenido de los elementos cribosos es empujado físicamente a lo largo de la ruta de transporte en un flujo másico, al igual que el agua fluye a través de una manguera.

El análisis de los valores del potencial hídrico de la figura 10.10 muestra que *el agua en el floema se mueve contra un gradiente de potencial hídrico de la fuente al sumidero.* Este movimiento del agua no transgrede las leyes de la termodinámica porque el agua se mueve por flujo másico y no por ósmosis. Es decir, no se cruzan membranas durante el transporte desde un tubo criboso a otro, y los solutos se mueven a la misma velocidad que las moléculas de agua.

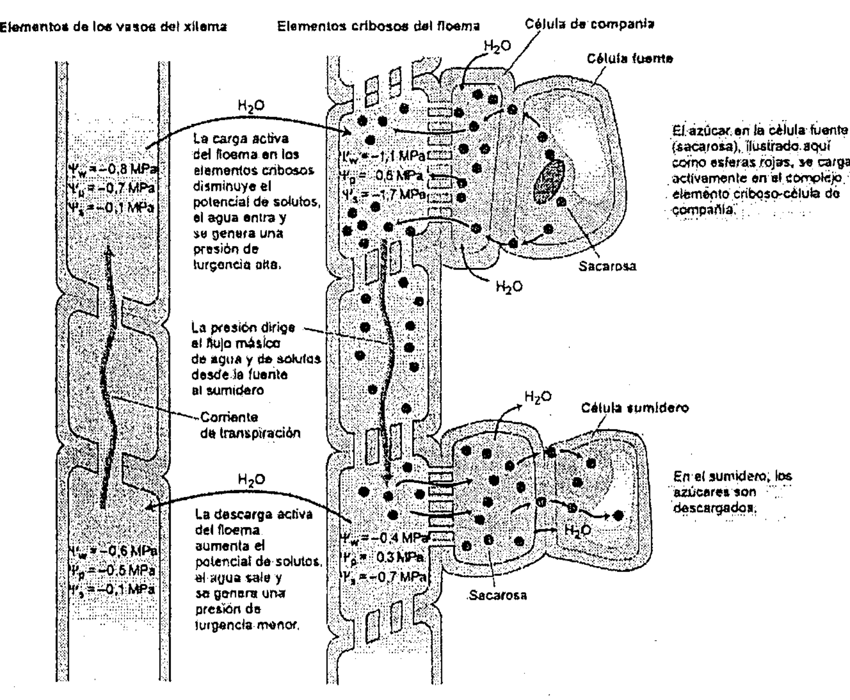


Figura 10.10 Modelo de flujo de presión del transporte en el floema. Se muestran posibles valores para Ψ_w, Ψ_P y Ψ_s en el xilema y en el floema. (Según Nobel 1971.)

En estas condiciones, el potencial de solutos (Ψ_s) no contribuye a la fuerza que dirige el movimiento del agua, aunque influye en el potencial hídrico. El movimiento del agua en la ruta de transporte es por tanto dirigido por el gradiente de presión y no por el gradiente de potencial hídrico. Desde luego, el transporte pasivo a larga distancia dirigido por la presión en los tubos cribosos depende, en último término, de los mecanismos de transporte activo a corta distancia implicados en la carga y descarga del floema. Estos mecanismos activos son responsables del establecimiento del gradiente de presión.

Las predicciones del modelo de flujo de presión se han confirmado

Del modelo de flujo de presión surgen algunas predicciones importantes:

- Los poros de las placas cribosas no deben estar obstruidos. Si la proteína P u otros materiales bloquearan los poros, la resistencia al flujo del fluido de los elementos cribosos sería demasiado grande.

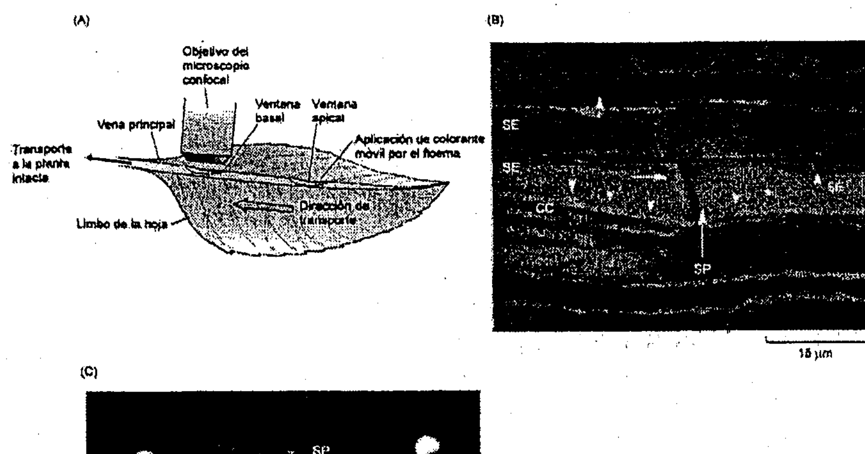
- En un único elemento criboso no puede producirse un verdadero *transporte bidireccional* (es decir, el transporte simultáneo en las dos direcciones). Un flujo másico de solución impide el movimiento bidireccional, dado que una solución puede fluir en un único sentido en una tubería a la vez. El movimiento bidireccional de solutos que se produce en el floema tiene lugar en diferentes haces vasculares o en diferentes elementos cribosos.
- No se requieren grandes cantidades de energía para dirigir el transporte en los tejidos a lo largo de la ruta, aunque se necesita energía para mantener la estructura de los elementos cribosos y recargar los azúcares perdidos al apoplasto por permeabilidad. Por tanto, los tratamientos que restringen el aporte de ATP en la ruta, como bajas temperaturas, anoxia e inhibidores metabólicos, no detendrían el transporte.
- La hipótesis de flujo de presión requiere la presencia de un gradiente de presión positiva. La presión de turgencia debe ser mayor en los elementos cribosos de las fuentes que en los elementos cribosos de los sumideros, y la diferencia de presión debe ser suficientemente grande como para vencer la resistencia de la ruta y para mantener el flujo a las tasas observadas.

Las evidencias disponibles para probar estas predicciones apoyan la hipótesis de flujo de presión.

Los poros de las placas cribosas son canales abiertos

Los estudios ultraestructurales de los elementos cribosos son complejos debido a la elevada presión interna en estas células. Cuando se corta el floema o se mata lentamente con fijadores químicos, se pierde la turgencia de los elementos cribosos. El contenido de la célula, incluida la proteína P, se mueve hacia el punto de reducción de la presión y, en el caso de los elementos del tubo criboso, se acumula en las placas cribosas. Esta acumulación es probablemente la razón por la que muchas de las primeras micrografías electrónicas muestran placas cribosas obstruidas.

Las técnicas actuales de congelación rápida y fijación permiten obtener una imagen fiable de los elementos cribosos sin alterar. Las micrografías electrónicas de los elementos del tubo criboso preparados por estas técnicas indican que la proteína P se encuentra normalmente a lo largo de la periferia de los elementos del tubo criboso (véanse las figuras 10.3, 10.4 y 10.5), o en ocasiones, distribuidas por todo el lumen de la célula. Además, los poros contienen proteína P en posiciones similares, revistiendo el poro o en forma de un retículo poco denso. La condición abierta de los poros, observada en muchas especies como cucurbitáceas, remolacha azucarera y judía (los ejemplos están en la figura 10.5), apoya el modelo de flujo de presión.



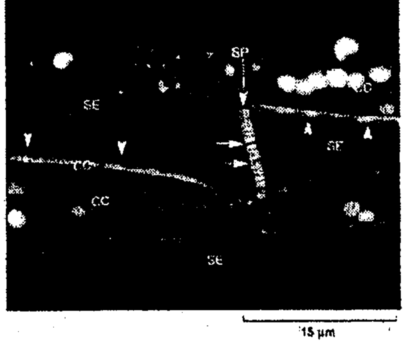


Figura 10.11 Transporte en elementos cribosos vivos de una hoja unida a una planta intacta de haba (*Vicia faba*). (A) Se cortaron dos ventanas paralelas a la epidermis del lado inferior en la vena principal de una hoja madura, dejando expuesto el floema. El objetivo del microscopio confocal láser se colocó sobre la ventana basal. En la ventana apical se añadió un colorante fluorescente móvil por el floema. Si se producía el transporte, el colorante se haría visible al microcopio en la ventana basal de la hoja. De esta manera se demostraría que los elementos cribosos estaban vivos y funcionales. (B) Tejido del floema de haba doblemente teñido con un colorante fluorescente aplicado localmente (rojo), que tiñe principalmente las membranas y un colorante fluorescente transportado (verde). Los depósitos de proteína (flechas) contra la membrana plasmática y las placas cribosas no impiden el transporte. Se tiñe de verde un cuerpo de proteína P cristalino (asterisco). Los plastos (puntas de flechas) están uniformemente distribuidos por la periferia del elemento criboso. CC = célula de compañía, SP = área cribosa. Véase también el tema **web 10.8**. (Según Knoblauch y van Bel 1998; cortesía de A. van Bel.) (Véase la micrografía en color en el CD.)

Además de las evidencias estructurales obtenidas mediante microscopía electrónica, es importante determinar si los poros de la placa cribosa están abiertos en el tejido intacto. El uso de microscopía confocal láser de barrido, que permite la observación directa del transporte a través de los elementos cribosos vivos, ha respondido a esta cuestión (Knoblauch y von Bel 1998). Estos experimentos muestran que

los poros de la placa cribosa de elementos vivos están abiertos durante el transporte (Figura 10.11).

No se ha observado transporte bidireccional en un elemento criboso único

Los investigadores han estudiado el transporte bidireccional aplicando dos marcadores radiactivos diferentes a dos hojas fuente, una sobre la otra (Eschrich 1975). Cada hoja recibe uno de los marcadores y la presencia de los dos marcadores se registra en un punto intermedio entre las dos fuentes.

El transporte en dos direcciones se ha detectado con frecuencia en elementos cribosos de diferentes haces vasculares en tallos. El transporte en dos direcciones también se ha observado en elementos cribosos adyacentes de un mismo haz en pecíolos. El transporte bidireccional en elementos cribosos adyacentes puede ocurrir en el pecíolo de una hoja en transición de sumidero a fuente y que simultáneamente importa y exporta fotoasimilados a través del pecíolo. Sin embargo, no se ha descrito nunca el transporte bidireccional en un único elemento criboso.

La tasa de transporte es normalmente insensible al aporte de energía de los tejidos de la ruta

En plantas que son capaces de sobrevivir períodos a bajas temperaturas, como la remolacha azucarera, el enfriamiento rápido de un pequeño segmento de un pecíolo de una hoja fuente a 1°C no produce una inhibición permanente de la cantidad de materia transportada desde la hoja (Figura 10.12). Más bien, hay un breve período de inhibición, después del cual la tasa de transporte vuelve lentamente al valor de los controles. El enfriamiento reduce la tasa de respiración y la síntesis y consumo de ATP en el pecíolo alrededor de un 90%, en el momento en el que el transporte se ha recuperado y se produce normalmente. Estos experimentos demuestran que la energía necesaria para el transporte a través de la ruta en estas plantas es pequeña, de acuerdo con la hipótesis de flujo de presión.

Los tratamientos extremos que inhiben todo el metabolismo energético inhiben el transporte. Por ejemplo, en judía (*Phaseolus vulgaris*), el tratamiento del pecíolo de una hoja fuente con un inhibidor metabólico (cianuro) inhibió el transporte desde la hoja. Sin embargo, el análisis por microscopía electrónica del tejido tratado reveló el bloqueo de los poros de las placas cribosas por restos celulares (Giaquinta y Geiger 1977). Obviamente, estos resultados no guardan relación con la necesidad de energía para el transporte a lo largo de la ruta.

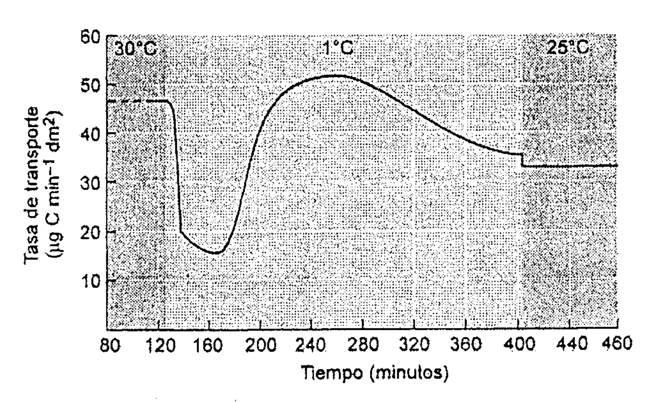


Figura 10.12 En remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), la pérdida de energía metabólica como consecuencia del enfriamiento del pecíolo de una hoja reduce parcialmente el transporte. El hecho de que el transporte se recupere cuando la producción y utilización de ATP están muy inhibidas por el congelamiento indica que la necesidad de energía para el transporte a través de la ruta de esta planta es pequeña. Se aplicó $^{14}CO_2$ a una hoja fuente, y se congeló a 1°C una porción de 2 cm de su pecíolo. Se midió el transporte registrando la llegada del ^{14}C a la hoja sumidero. (dm [decímetro] = 0,1 m) (Datos de Geiger y Sovonick 1975.)

Los gradientes de presión son suficientes como para dirigir el flujo másico de una solución

La presión de turgencia en los elementos cribosos puede ser calculada a partir del potencial hídrico y el potencial osmótico ($\Psi_p = \Psi_w - \Psi_s$) o bien medida directamente. La técnica más efectiva es el uso de micromanómetros o transductores de presión sellados a los estiletes de áfidos (véase la figura 10.2A en el **tema web 10.2**) (Wright y Fisher 1980). Los datos obtenidos son precisos porque los áfidos perforan un único elemento criboso y, aparentemente, la membrana plasmática se sella bien alrededor del estilete. Cuando se mide la presión de turgencia de un elemento criboso por esta técnica, la presión en la fuente es mayor que en el sumidero.

En soja, se ha demostrado que la diferencia de presión observada entre la fuente y el sumidero es suficiente para dirigir el flujo de masa a través de la ruta, teniendo en cuenta la resistencia de la ruta (causada principalmente por los poros de las placas cribosas), la longitud de la ruta y la tasa de transporte (Fisher 1978). La diferencia de presión entre la fuente y el sumidero, calculada a partir del potencial hídrico y el potencial osmótico, fue de 0,41 MPa, y la diferencia de presión necesaria para el transporte por flujo de presión se calculó entre 0,12 y 0,46 MPa. Así, la diferencia de presión observada parece ser suficiente como para dirigir el flujo másico a través del floema.

Podemos concluir que todos los experimentos y datos que hemos descrito aquí apoyan el funcionamiento descrito en el modelo de flujo de presión en el floema de

las angiospermas. La ausencia de un requerimiento energético en la ruta y la presencia de poros abiertos en las placas cribosas son una evidencia definitiva de un mecanismo relativamente pasivo en el transporte por la ruta floemática. La imposibilidad de detectar un transporte bidireccional o proteínas de motilidad, así como los datos positivos de los gradientes de presiones, apoya la hipótesis de flujo de presión.

El mecanismo de transporte en el floema en gimnospermas puede ser diferente

Aunque el flujo de presión nos permite explicar el transporte en las angiospermas, puede ser insuficiente en las gimnospermas. La información fisiológica disponible sobre el floema en las gimnospermas es escasa, y las especulaciones sobre el transporte en estas especies están basadas casi por completo en la interpretación de micrografías electrónicas. Como analizamos anteriormente, las células cribosas de las gimnospermas son similares en muchos aspectos a los elementos del tubo criboso de las angiospermas, pero las áreas cribosas de las células cribosas están relativamente poco especializadas y no parecen estar formadas por poros abiertos (Figura 10.6).

Los poros en las gimnospermas están llenos de numerosas membranas continuas con el retículo endoplásmico liso adyacente a las áreas cribosas. Estos poros no satisfacen las exigencias de la hipótesis de flujo de presión. Aunque estas micrografías electrónicas puedan ser un artefacto y no muestren las características del tejido intacto, el transporte en las gimnospermas podría implicar un mecanismo diferente, una posibilidad que requiere estudios adicionales.

LA CARGA DEL FLOEMA: DE LOS CLOROPLASTOS A LOS ELEMENTOS CRIBOSOS

En el movimiento de los fotoasimilados desde los cloroplastos del mesofilo hasta los elementos cribosos de las hojas maduras, lo que se denomina «carga del floema», están implicadas varias etapas de transporte (Oparka y van Bel 1992):

1. Las triosas fosfato formadas por fotosíntesis durante el día (véase el capítulo 8) se transportan desde el cloroplasto al citosol, donde se convierten en sacarosa. Durante la noche, el carbono almacenado como almidón sale del cloroplasto, probablemente en forma de glucosa, y es convertido en sacarosa. En algunas especies, a partir de la sacarosa, posteriormente se sintetizan otros azúcares de transporte.

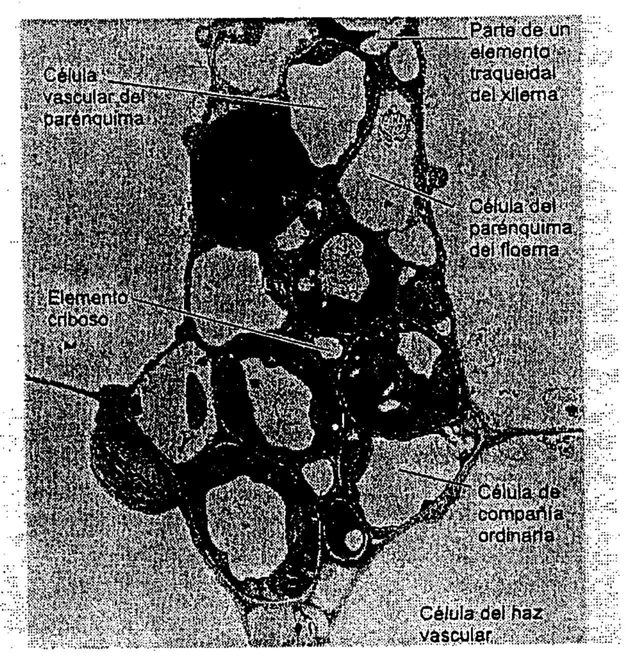


Figura 10.13 Micrografía electrónica mostrando la relación entre los diferentes tipos de células de la vena en una hoja fuente de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*). Alrededor de la capa de células de la vaina del haz, ordenadas compactamente, están las células fotosintéticas (células del mesofilo). Los fotoasimilados que se mueven desde el mesofilo deben recorrer una distancia equivalente a varios diámetros celulares antes de ser cargadas en los elementos cribosos. (Según Evert y Mieerzwa 1985, cortesía de R. Evert.)

2. La sacarosa se mueve desde las células del mesofilo a las cercanas a los elementos cribosos de las venas más pequeñas de las hojas (Figura 10.13). Esta ruta de **transporte a corta distancia** normalmente cubre una distancia de sólo dos o tres diámetros celulares.
3. En un proceso llamado **carga del elemento criboso,** los azúcares son transportados a los elementos cribosos y las células de compañía. En la mayor parte de las especies estudiadas, los azúcares están más concentrados en los elementos cribosos y en las células de compañía que en el mesofilo. Obsérvese que, respecto a la carga, los elementos cribosos y las células de compañía se consideran con frecuencia una unidad funcional, llamada *complejo elemento criboso-célula de compañía*. Una vez dentro de los elementos cribosos, la sacarosa y otros solutos son transportados desde la fuente, un proceso conocido como **exportación.** El transporte a través del sistema vascular al sumidero se conoce como **transporte a larga distancia.**

Como analizamos anteriormente, los procesos de carga en la fuente y de descarga en el sumidero proporcionan la fuerza motriz que genera el gradiente de presión que empuja la savia del floema en el transporte a larga distancia y por tanto tiene gran importancia tanto desde un punto de vista básico como agrícola. La comprensión de estos mecanismos proporcionará las bases tecnológicas para aumentar la productividad de los cultivos, incrementando la acumulación de fotoasimilados en tejidos sumideros comestibles, como los granos de cereales.

Las fotoasimilados se pueden mover desde las células del mesofilo a los elementos cribosos por la vía del apoplasto o por la del simplasto

Hemos visto que los solutos (sobre todo los azúcares) se mueven en las hojas fuente desde las células que realizan la fotosíntesis en el mesofilo a las venas. Los azúcares se pueden mover a través del simplasto (citoplasma), vía plasmodesmos, o pueden entrar en el apoplasto en algún punto de su ruta hacia el floema (Figura 10.14).

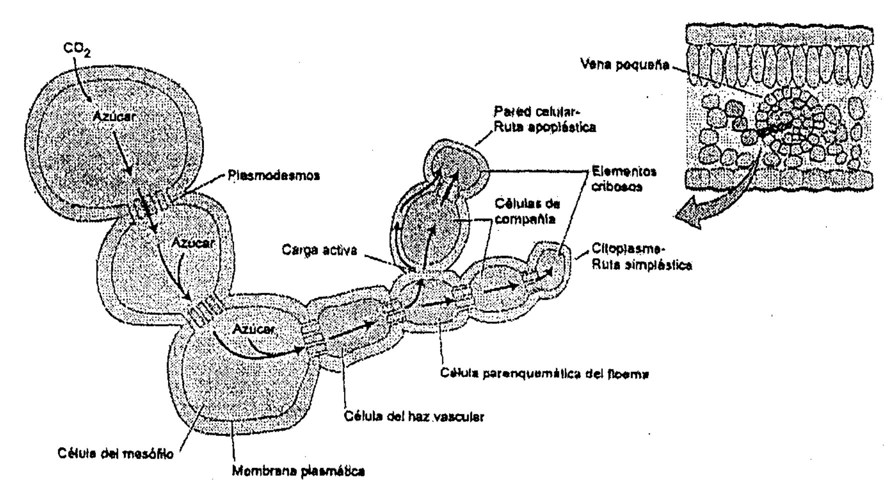


Figura 10.14 Diagrama de las posibles rutas de carga del floema en hojas fuente. En la ruta exclusivamente simplástica, los azúcares se mueven de una célula a otra por los plasmodesmos, desde el mesofilo a los elementos cribosos. En la ruta parcialmente apoplástica, los azúcares entran en el apoplasto en algún punto. Por simplicidad, aquí se muestran los azúcares entrando en el apoplasto cerca del complejo elemento criboso-célula de compañía, pero también es posible que entren en el apoplasto antes en la ruta y entonces se dirijan a las venas pequeñas. En cualquier caso, los azúcares son cargados activamente en las células de compañía y en los elementos cribosos desde él apoplasto. Se cree que los azúcares cargados en las células de compañía se mueven a través de los plasmodesmos a los elementos cribosos.

(véase la figura 4.3 para una descripción general del simplasto y del apoplasto.) En este último caso, los azúcares se cargan activamente desde el apoplasto a los elementos cribosos y las células de compañía por un transportador selectivo que requiere energía, localizado en la membrana plasmática de estas células. De hecho, las rutas apoplástica y simplástica son empleadas por diferentes especies.

Las investigaciones iniciales sobre la carga del floema se centraron en la ruta apoplástica. La carga apoplástica del floema nos lleva a tres predicciones básicas (Grusak y col. 1996): (1) Los azúcares transportados deberían aparecer en el apoplasto; (2) en experimentos en los que se aportan azúcares al apoplasto, los azúcares aportados exógenamente deberían acumularse en los elementos cribosos y en las células de compañía; y (3) la inhibición de la incorporación de azúcar desde el apoplasto provocaría la inhibición de la exportación desde la hoja. Los estudios realizados para intentar probar estas predicciones han proporcionado pruebas sólidas de la carga apoplástica en muchas especies (véase el **tema web 10.5**).

La incorporación de sacarosa en la ruta apoplástica requiere energía metabólica

En las hojas fuente, los azúcares están más concentrados en los elementos cribosos y en las células compañía que en el mesofilo. Esta diferencia en la concentración de so-

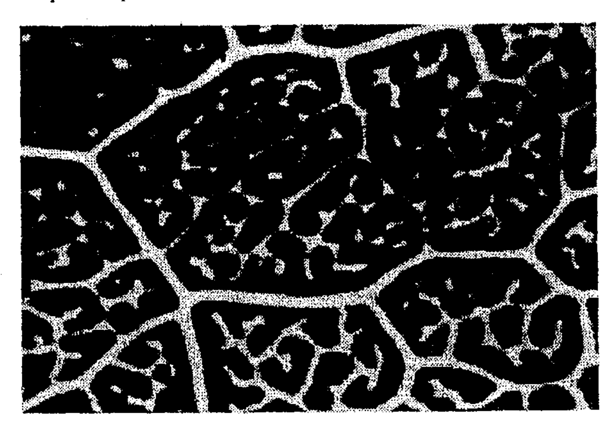


Figura 10.15 Autorradiografía que muestra el movimiento de los azúcares marcados del apoplasto a los elementos cribosos y las células de compañía en contra de si gradiente de concentración. Se aplicó una solución de sacarosa marcada con ^{14}C-azúcar durante 30 minutos a la parte superior de una hoja de remolacha azucarera (*Beta vulgaris*) que previamente había sido mantenida en oscuridad. La cutícula de la hoja se eliminó para permitir que la solución penetrase en el interior de la hoja. La marca se acumula en las venas menores, en los elementos cribosos y en las células de compañía de la hoja fuente, indicando la capacidad de estas células de transportar sacarosa en contra de su gradiente de concentración. (Según Fondy 1975, cortesía de D. Geiger.)

lutos, encontrada en la mayoría de las especies estudiadas, puede demostrarse midiendo el potencial osmótico (Ψ_s) de diversos tipos de células en la hoja (véase el capítulo 3).

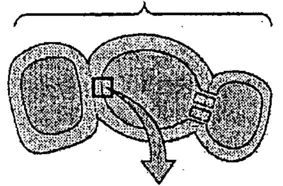
En remolacha azucarera, el potencial osmótico del mesofilo es aproximadamente de –1,3 MPa y el potencial osmótico de los elementos cribosos y de las células compañía es de unos –3,0 MPa (Geiger y col. 1973). Se cree que la mayor parte de esta diferencia en el potencial osmótico se debe a la acumulación de azúcares, especialmente sacarosa, dado que la sacarosa es el principal azúcar transportado en esta especie. Diversos estudios experimentales han demostrado que la sacarosa, tanto la aplicada exógenamente como la formada a partir de la fotosíntesis, se acumula en los elementos cribosos y en las células compañía de las venas menores de una hoja fuente de remolacha azucarera (Figura 10.15). El hecho de que la sacarosa se encuentre a mayor concentración en el complejo elemento criboso-célula de compañía que en las células de alrededor indica que la sacarosa se transporta activamente en contra de su gradiente de potencial químico. La dependencia de la acumulación de sacarosa del transporte activo viene apoyada por los experimentos que demuestran que los tratamiento de tejidos fuente con inhibidores respiratorios disminuye la concentración de ATP en el tejido e inhibe la carga de azúcar exógeno. Por otro lado, otros metabolitos, como los ácidos orgánicos y las hormonas, pueden entrar en los elementos cribosos pasivamente (véase el **tema web 10.6**).

En la ruta apoplástica, la carga del elemento criboso implica un transportador simporte sacarosa/H⁺

El transporte de sacarosa desde el apoplasto al complejo elemento criboso-célula de compañía se cree que es realizado por un transportador simporte de sacarosa y protones. Recordemos del capítulo 6 que el transporte simporte es un proceso de transporte secundario que emplea la energía generada por una bomba de protones (véase la figura 6.10A). La energía disipada por el movimiento de los protones de vuelta a la célula está acoplada a la incorporación de un sustrato, en este caso sacarosa (Figura 10.16).

Un pH alto (una concentración baja de H^+) en el apoplasto reduce la incorporación de sacarosa exógena en los elementos cribosos y en las células de compañía de haba. Este efecto se produce porque una baja concentración de protones en el apoplasto reduce la fuerza motora para la difusión de protones al simplasto y del transporte simporte sacarosa/H^+.

Los datos de los estudios moleculares apoyan la acción de un transportador simporte de sacarosa y protones en la carga del elemento criboso. Las H^+-ATPasas, localizadas por técnicas inmunológicas, se han encontrado en las membranas plasmáticas de las células de compañía en *Arabidopsis* y en las células de transferencia de haba. En las células de transferencia, las H^+-ATPasas están más concentradas en las invaginaciones de la membrana plasmática localizadas frente a las células de la vaina del haz y del parénquima (para más detalles, véase el **tema web 10.7**).



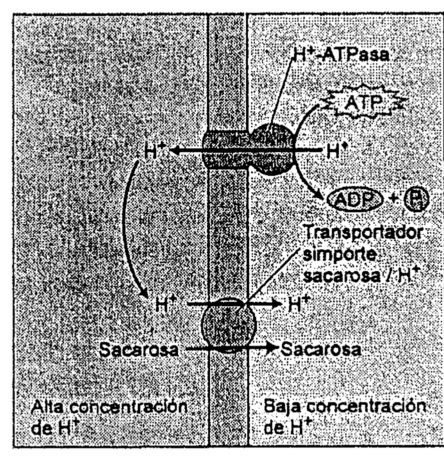


Figura. 10.16 Transporte de sacarosa dependiente de ATP en el elemento criboso. En el modelo de cotransporte para la carga de sacarosa en el simplasto del complejo elemento criboso-célula de compañía, la ATPasa de la membrana plasmática bombea protones desde la célula al apoplasto, estableciendo una alta concentración de protones. La energía de este gradiente de protones se utiliza para dirigir el transporte de sacarosa al simplasto del complejo elemento criboso-célula de compañía mediante un transportador simporte sacarosa/H+.

Esta localización sugiere que la función de las H^+-ATPasas es proporcionar energía para el transporte de fotoasimilados desde el apoplasto a los elementos cribosos (Bouche-Pillon y col. 1994). Además, la distribución de las H^+-ATPasas en las células de compañía de *Arabidopsis* parece estar correlacionada con la distribución del transportador simporte de sacarosa y protones llamado SUC2 (DeWitt y Sussman 1995; Truernit y Sauer 1995). El transportador SUC2 también se ha localizado en células de compañía de llantén, *Plantago major* (véase el **tema web 10.7**). Las H^+-ATPasas y los transportadores simporte sacarosa/H^+ se encuentran en algunos casos localizados juntos en la membrana plasmática de los elementos cribosos (Langhans y col. 2001) y no en las células de compañía.

TABLA 10.3
Transportadores simporte sacarosa-H^+ en el floema

Transportador	Localización	Especies	Afinidad	Fuente
SUT1	Elementos cribosos	Tabaco, tomate, patata	Alta	Kuhn y col. 1997
SUT2	Elementos cribosos	Tomate	Sensor	Barrer y col. 2000
SUT4	Elementos cribosos	*Arabidopsis*, tomate, patata	Baja	Weise y col. 2000
SUC2	Células de compañía	*Arabidopsis*, plántula	—	Truernit y Saber 1995; Stadler y col. 1995

SUC2 es uno de los diferentes transportadores simporte sacarosa/H^+ que se han clonado y localizado en el floema (Tabla 10.3). Los transportadores se encuentran en las membranas plasmáticas tanto de los elementos cribosos (SUT1, SUT2 y SUT4) como de las células de compañía (SUC2). Trabajos con SUC1 han demostrado que los RNA mensajeros de los transportadores simporte encontrados en la membrana de los elementos cribosos se sintetizan en las células de compañía (Kuhn y col. 1997). Este hallazgo está de acuerdo con el hecho de que los elementos cribosos carecen de núcleo. La proteína transportadora simporte probablemente también se sintetiza en las células de compañía, ya que los elementos cribosos maduros carecen de ribosomas.

La función de los transportadores de la tabla 10.3 está siendo revisada. La mayoría de los transportadores se encuentran en tejidos fuente, de la ruta y sumidero. SUT1, caracterizado como un transportador de alta afinidad/baja capacidad que se encuentra en las venas menores de tejidos fuente, parece ser importante en la carga del floema. Las plantas de patata transformadas con DNA antisentido de SUT1 muestran una actividad transportadora reducida, una reducción en el crecimiento de la raíz y del tubérculo y una acumulación de almidón y lípidos en hojas fuente (Schulz y col. 1998).

Se cree que SUT1 también funciona en la recuperación de la sacarosa perdida durante el transporte. El papel importante de SUT1 en la carga del floema parece estar complementado por SUT4, un transportador de baja afinidad/alta capacidad (Weise y col. 2000). Por otro lado, SUT2 parece funcionar como un sensor de sacarosa, como parece indicarlo el hecho de que SUT2 se expresa mucho más en los tejidos sumidero y de la ruta que en las hojas fuente, y por la similitud de muchas características estructurales de SUT2 y los sensores de azúcares de levaduras (Lalonde y col. 1999; Barrer y col. 2000). Finalmente, parece ser que la función de SUC2 es la incorporación de sacarosa a las células de compañía.

La regulación de la carga de la sacarosa. Los mecanismos que regulan la carga de la sacarosa desde el apoplasto a los elementos cribosos por el transportador simporte de sacarosa y protones todavía no han sido caracterizados. Los posibles factores reguladores incluyen:

- *El potencial osmótico, o más probablemente, la presión de turgencia en los elementos cribosos.* Un descenso en la turgencia en los elementos cribosos por debajo de un cierto valor umbral llevaría a un aumento de la carga que lo compensaría.
- *La concentración de sacarosa en el apoplasto.* Altas concentraciones de sacarosa en el apoplasto aumentarían la carga del floema.
- *La disponibilidad del número de transportadores simporte.* Los niveles de mRNA y proteína del transportador SUT1 son inferiores tras 15 horas de oscuridad que después de un tratamiento con luz. Estos datos sugieren que la concentración de las moléculas del transportador SUT1 regulan la carga.

Otros estudios han mostrado que el flujo de salida de sacarosa al apoplasto aumenta por la disponibilidad de potasio en el apoplasto, sugiriendo que un mejor aporte de nutrientes aumenta el transporte a los sumideros y refuerza el crecimiento del sumidero.

La carga del floema en plantas con células intermediarias parece ser simplástica

Como analizamos anteriormente, muchos resultados indican a una carga apoplástica del floema en especies que tienen células de compañía ordinarias o células de transferencia en las venas menores y que transportan sólo sacarosa. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto una ruta simplástica en especies que transportan rafinosa y estaquinosa en el floema, además de sacarosa, y que tienen células intermediarias en las venas menores. Algunos ejemplos de estas especies son el cóleo (*Coleus blumei*), calabacín (*Cucurbita pepo*) y melón (*Cucumis melo*) (véase el **tema web 10.8**).

El funcionamiento de una ruta simplástica requiere la presencia de plasmodesmos abiertos entre las diferentes células de la ruta. Muchas especies tienen numerosos plasmodesmos en la interfase entre el complejo elemento criboso-célula de compañía y las células adyacentes (véase la figura 10.7C), y estudios experimentales han demostrado la continuidad simplástica en las hojas fuente de algunas especies (véase el **tema web 10.8**).

El modelo de trampa de polímeros explica la carga simplástica en las hojas fuente

La composición de la savia del elemento criboso es generalmente diferente de la composición de solutos de los tejidos que rodean al floema. Esta diferencia indica que

ciertos azúcares son seleccionados específicamente para ser transportados desde la hoja fuente. La implicación de transportadores simporte en la carga apoplástica del floema proporciona un claro mecanismo de selectividad debido a que los transportadores simporte son específicos de ciertas moléculas de azúcar. Por otro lado, la carga simplástica depende de la difusión de azúcares desde el mesofilo a los elementos cribosos a través de los plasmodesmos. Es más difícil entender cómo la difusión a través de los plasmodesmos durante la carga simplástica podría ser selectiva para ciertos azúcares.

Es más, los datos de varias especies que muestran una carga simplástica indican que los elementos cribosos y las células de compañía tienen un contenido osmótico mayor que el del mesofilo. ¿Cómo podría la carga simplástica dependiente de la difusión responder a la selectividad observada para el transporte y acumulación de azúcares en contra de su gradiente de concentración?

El **modelo de trampa de polímeros** (Figura 10.17) se ha desarrollado para responder a estas cuestiones (Turgor y Gowan 1990). Este modelo establece que la sacarosa sintetizada en el mesofilo difunde desde las células de la vaina del haz a las células intermediarias a través de los numerosos plasmodesmos que conectan los dos tipos de células. En las células intermediarias, la rafinosa y la estaquinosa (polímeros que se forman a partir de tres y cuatro moléculas de hexosas, respectivamente; véase la figura 10.9B) se sintetizan a partir de la sacarosa transportada y de galactosa. Debido a la anatomía del tejido y al tamaño relativamente grande de la rafinosa y estaquinosa, los polímeros no pueden difundir de vuelta a las células de la vaina del haz, pero sí que pueden difundir hacia el elemento criboso. La sacarosa puede continuar la difusión a las células intermediarias porque su síntesis en el mesofilo y su utilización en las células intermediarias mantienen el gradiente de concentración (véase la figura 10.17).

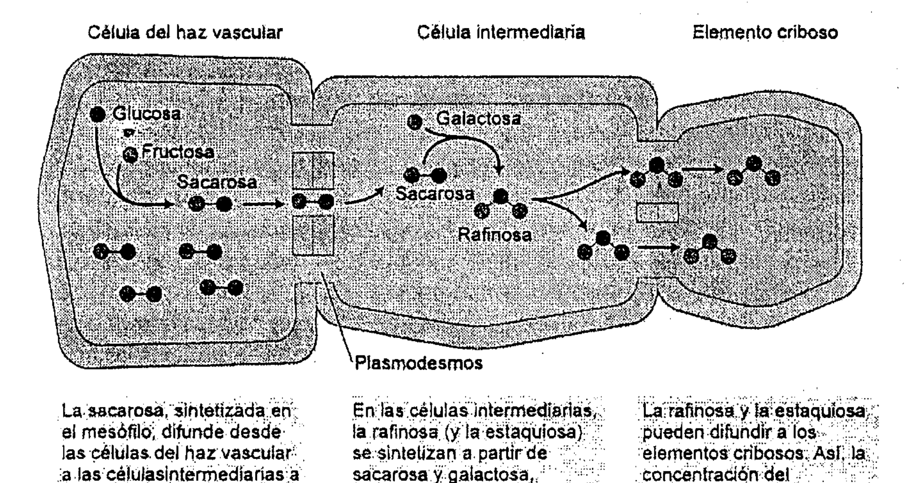


Figura 10.17 Modelo de trampa de polímeros para la carga del floema. Para simplificar, el trisacárido estaquinosa se ha omitido. (Según van Bel 1992.) (Véase la fotografía en color en el CD.)

El modelo de trampa de polímeros requiere tres predicciones:

1. La sacarosa debería estar más concentrada en el mesofilo que en las células intermediarias.
2. Los enzimas para la síntesis de rafinosa y estaquinosa deberían estar localizados preferentemente en las células intermediarias.
3. Los plasmodesmos que unen las células de la vaina del haz con las células intermediarias deberían excluir moléculas mayores que sacarosa.

Muchos estudios apoyan el modelo de trampa de polímeros. Por ejemplo, todos los enzimas para la síntesis de la estaquinosa a partir de sacarosa se han encontrado en las células intermediarias. En melón, la rafinosa y estaquinosa se encuentran en altas concentraciones en las células intermediarias, pero no en las células del mesofilo.

El tipo de carga del floema está correlacionado con la familia vegetal y el clima

Como analizamos anteriormente, la acción de las rutas de carga apoplástica o simplástica está relacionada con el azúcar transportado, el tipo de célula de compañía en las venas menores y el número de plasmodesmos que conectan los elementos cribosos y las células de compañía a las células fotosintéticas adyacentes (Tabla 10.4) (van Bel y col. 1992):

- Las especies que muestran una carga apoplástica del floema transportan sacarosa casi exclusivamente, tienen células de compañía ordinarias o células de transferencia en las venas menores y poseen pocas conexiones entre el complejo elemento criboso-célula de compañía y las células que lo rodean.
- Las especies que muestran una carga simplástica del floema transportan oligosacáridos como la rafinosa, además de la sacarosa, tienen células de compañía tipo intermediario en las venas menores y poseen abundantes conexiones entre el complejo elemento criboso-célula de compañía y las células que lo rodean.

TABLA 10.4
Aptrones apoplástico y simplásticos de carga

	Carga apoplástica	Carga simplástica
Azúcar transportado	Sacarosa	Oligosacáridos, además de sacarosa
Tipo de células de compañía en las venas menores	Células de compañía ordinarias o células de transferencia	Células intermedarias
Número de plasmodesmos que conectan los elementos cribosos y las células de compañía a las células adyacentes	Pocos	Abundantes

Vaso del xilema
Célula de compañía
Parénquima del floema
Elemento criboso
Plasmodesmos
Célula intermediaria

Fuente: Dibujos según van Bel y col. 1992.
Nota: Algunas especies pueden cargar apoplástica y simplásticamente, dado que se pueden encontrar diferencites tipos de células de compañía en las venas de una especie.

Las plantas que tienen abundantes plasmodesmos entre el floema y las células de los alrededores son con frecuencia árboles, arbustos y parras. Las plantas con pocos plasmodesmos en esta interfase son normalmente plantas herbáceas. En general, las plantas con abundantes plasmodesmos entre el floema y las células que lo rodean tienden a ser plantas que se encuentran en regiones tropicales y subtropicales, mientras que las plantas con muy pocos plasmodesmos en su interfase son frecuentes en climas templados y áridos.

Existen, desde luego, casos intermedios y excepciones a estas generalizaciones. Algunas especies con carga apoplástica tienen más plamodesmos uniendo sus células de compañía con las adyacentes de lo que estaría predicho para las especies conocidas de carga apoplástica (Goggin y col. 2000). Algunas especies tienen más de un tipo de células de compañía en las venas menores. Por ejemplo, *Coleus* tiene células intermediarias y células de compañía ordinarias. Se ha sugerido que las rutas simplástica y apoplástica puedan coexistir en algunas especies, simultáneamente o en diferentes momentos, en diferentes elementos cribosos de la misma vena o en diferentes elementos cribosos en venas de diferentes tamaños (Turgeon y col. 2001).

Las investigaciones futuras podrían revelar nuevas rutas de carga o combinaciones de las rutas (Flora y Madore 1996). El estudio de los diferentes tipos de carga y cómo estos permiten a las especies adaptarse a su entorno, así como la clarificación de las rutas de carga para más especies centrarán las investigaciones en el futuro.

LA DESCARGA DEL FLOEMA Y LA TRANSICIÓN DE SUMIDERO A FUENTE

Ahora que hemos estudiado los procesos que conducen a la exportación de los azúcares desde las fuentes veamos la descarga del floema. En muchos casos, los acontecimientos en los tejidos sumidero son simplemente el proceso inverso a los pasos que ocurren en las fuentes. El transporte a los órganos sumidero, como raíces en desarrollo, tubérculos y estructuras reproductivas, se llama **importación**. En la importación de azúcares a las células sumidero están implicadas las siguientes etapas.

1. *Descarga desde el elemento criboso.* Este es el proceso por el que los azúcares importados abandonan los elementos cribosos en los tejidos sumidero.
2. *El transporte a corta distancia.* Después de la descarga del elemento criboso, los azúcares son transportados a las células en el sumidero por una ruta de transporte a corta distancia. Esta ruta también se conoce como *transporte post-elemento criboso.*
3. *Almacenamiento y metabolismo.* En la etapa final, los azúcares son almacenados o metabolizados en las células sumidero.

El conjunto de las tres etapas de transporte constituye **la descarga del floema**, el movimiento de los fotoasimilados desde los elementos cribosos y su distribución a las células sumidero que los almacenan o metabolizan (Oparka y van Bel 1992).

En esta sección analizaremos las siguientes cuestiones: ¿Es la descarga del floema simplástica o apoplástica? ¿Se hidroliza la sacarosa en el proceso? ¿Requiere energía la descarga del floema? Finalmente examinaremos el proceso de transición por el que una hoja joven que importa se convierte en hoja fuente exportadora.

La descarga del floema puede ocurrir por las rutas simplástica o apoplástica

En los órganos sumidero, los azúcares se mueven desde los elementos cribosos a las células que los almacenan o metabolizan. Los sumideros pueden ser órganos vegetativos en crecimiento (ápices de raíces y hojas jóvenes), tejidos de almacenamiento (raíces y tallos) y órganos de reproducción y dispersión (frutos y semillas). Como los sumideros varían en estructura y función, no hay un único modelo de descarga del flo-

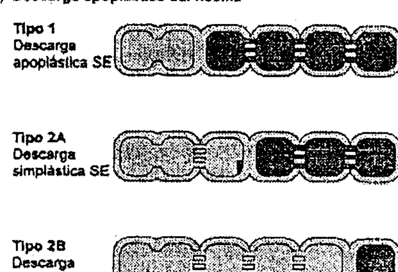


Figura 10.18 Rutas de descarga del floema. El complejo elemento criboso-célula de compañía (CC-SE) se considera una unidad funcional. La presencia de plasmodesmos proporciona una continuidad simplástica funcional. La ausencia de plasmodesmos entre las células indica una etapa de transporte apoplástico. (A) Descarga del floema simplástica. (B) Tres tipos de descarga del floema apoplástica. (Según Oparka y van Bel 1992.) (Véase el esquema en color en el CD.)

ema. Al igual que en las fuentes, los azúcares pueden salir exclusivamente por la vía simplástica a través de los plasmodesmos o pueden entrar en el apoplasto en algún punto.

La figura 10.18 ilustra varias rutas posibles de descarga del floema. La ruta de descarga parece ser exclusivamente simplástica en hojas jóvenes de algunas dicotiledóneas, como remolacha azucarera y tabaco (Figura 10.18A). Existen evidencias de una ruta simplástica de descarga a partir de experimentos realizados con PCMBS (ácido *p*-cloromercurobencenosulfónico), un reactivo que inhibe el transporte de sacarosa a través de las membranas plamásticas, pero que no penetra en la ruta simplástica. Las regiones meristemáticas y de elongación de los ápices radicales primarios también parecen realizar una descarga simplástica. La existencia de suficientes plasmodesmos en estas rutas apoya la descarga simplástica.

En algunos órganos sumidero, parte de la ruta de descarga del floema es apoplástica (Figura 10.18B). En principio, la etapa apoplástica podría estar localizada en el complejo elemento criboso-célula de compañía (tipo 1 en la figura 10.18B), aunque este patrón no ha sido confirmado experimentalmente. La etapa apoplástica podría estar alejada de los elementos cribosos (tipo 2). Este ordenamiento, típico de semillas en desarrollo, parece ser el más común en la ruta de descarga apoplástica.

En el desarrollo de la semilla es necesaria una etapa apoplástica ya que no existen conexiones simplásticas entre los tejidos maternos y los tejidos del embrión. Los azúcares salen de los elementos cribosos (descarga de los elementos cribosos) por la vía simplástica y pasan al apoplasto lejos del complejo elemento criboso-célula de compañía (tipo 2 en figura 10.18B). La etapa apoplástica permite un control de la membrana sobre las sustancias que entran al embrión, ya que, durante el proceso, se han de cruzar dos membranas.

Cuando la descarga del floema es apoplástica, el azúcar transportado puede ser parcialmente metabolizado en el apoplasto o puede cruzar el apoplasto sin cambios (véase el **tema web 10.9**). Por ejemplo, la sacarosa puede ser hidrolizada a glucosa y fructosa en el apoplasto por una invertasa, un enzima que rompe la sacarosa, y la glucosa y/o fructosa podrían entrar entonces en las células sumidero. Como analizaremos más adelante, los enzimas que hidrolizan la sacarosa participan en el control del transporte en el floema a los sumideros.

El transporte a los tejidos sumidero precisa energía metabólica

Estudios con inhibidores han demostrado que el transporte a los tejidos sumidero requiere energía. Las hojas en crecimiento, raíces y sumideros de almacenamiento, en los que el carbono es almacenado como almidón o proteína, emplean la descarga simplástica del floema. Los azúcares transportados son empleados como sustrato para la respiración y son metabolizados en polímeros de reserva y a compuestos necesarios para el crecimiento. El metabolismo de la sacarosa provoca una reducción en su concentración en las células sumidero, manteniendo así un gradiente de concentración para la incorporación de azúcares. Durante la incorporación de azúcares en las células sumidero no se atraviesa ninguna membrana, y la descarga a través de los plasmodesmos es pasiva porque los azúcares transportados se mueven desde las altas concentraciones de los elementos cribosos hacia las bajas concentraciones de las células sumidero. La energía metabólica es necesaria en estos órganos sumidero para la respiración y las reacciones biosintéticas.

En la descarga apoplástica, los azúcares deben cruzar al menos dos membranas: la membrana plasmática de la célula que exporta el azúcar y la membrana plasmática de la célula sumidero. Cuando se produce el transporte a la vacuola de la célula sumidero, el azúcar debe atravesar además el tonoplasto.

Como analizamos anteriormente, el transporte a través de las membranas en la ruta apoplástica puede ser dependiente de energía. Las semillas en desarrollo son sistemas experimentales valiosos para el estudio de los procesos de descarga. En legumbres, como la soja, se puede eliminar el embrión de la semilla y estudiar la descarga desde la cubierta seminal al apoplasto, sin la influencia del embrión. La incorporación en el embrión se puede también investigar por separado. Estos estudios

han demostrado que en soja, tanto la descarga de sacarosa en el apoplasto como la incorporación de sacarosa en el embrión son realizadas por transportadores con requerimiento de energía (véase el **tema web 10.10**).

La transición de una hoja de sumidero a fuente es gradual

Las hojas de dicotiledóneas, como tomate y judía, inician su desarrollo como órganos sumidero. Más adelante, se inicia la transición desde el estado de sumidero al de fuente, generalmente cuando la hoja está expandida un 25% y se completa cuando la hoja está expandida entre un 40 y un 50%.

La exportación desde la hoja se inicia en el extremo o ápice de la lámina, y progresa hacia la base hasta que la totalidad de la hoja se convierte en exportadora de azúcares. Durante el período de transición, el extremo exporta azúcar mientras que la base lo importa desde otras hojas fuente (Figura 10.19).

La maduración en las hojas viene acompañada por un gran número de cambios funcionales y anatómicos, muchos de los cuales son necesarios para la exportación de fotoasimilados. La transición de sumidero a fuente es muy diferente en especies con carga apoplástica del floema frente a las de carga simplástica. En hojas con carga apoplástica del floema, se debe producir un cambio desde la ruta de descarga simplástica a la ruta de carga apoplástica.

En el desarrollo de una hoja que realizará la carga apoplástica, el cese de la importación y el inicio de la exportación son sucesos independientes (Turgeon 1984). En hojas albinas de tabaco, que no tienen clorofila y, por tanto, son incapaces de realizar la fotosíntesis, la importación cesa en el mismo estado de desarrollo que en las

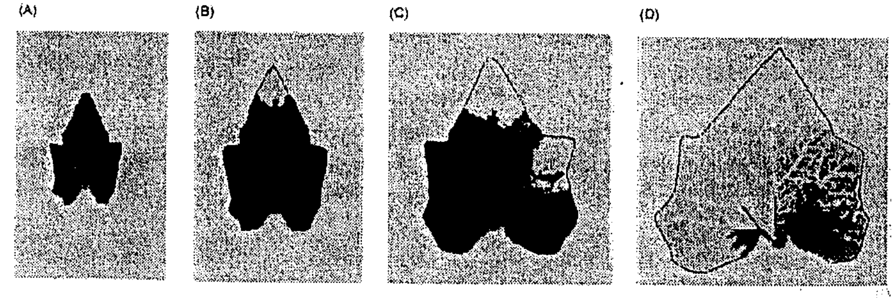


Figura 10.19 Autoradiografías de una hoja de calabacín (*Cucurbita pepo*) que muestra la transición de una hoja desde el estado de sumidero al de fuente. En cada caso, el ^{14}C se importó por la hoja desde la hoja fuente durante 2 horas. La marca se muestra como manchas negras. (A) Toda la hoja es sumidero, importando azúcares desde la hoja fuente. (B-D) La base es todavía un sumidero. A medida que el ápice de la hoja pierde la capacidad de importar azúcares (como lo muestra la pérdida de manchas negras), gana la capacidad de cargar y exportar azúcares. (Según Turgeon y Webb 1973.)

hojas verdes, aunque no sea posible la exportación. Por tanto, para que se produzca el cese de la importación de azúcares se debe producir algún otro cambio en las hojas en desarrollo.

Este cambio puede implicar el bloqueo de la ruta de descarga en algún punto durante el desarrollo de las hojas. En las hojas sumidero de dicotiledóneas con carga simplástica, factores que podían causar el cese de la descarga son el cierre de los plasmodesmos, un descenso en la frecuencia plasmodésmica u otros cambios en la continuidad simplástica. Los datos experimentales muestran que la ruta de descarga está bloqueada en las hojas maduras con carga apoplástica.

La exportación de azúcares se inicia cuando la carga del floema ha acumulado suficientes fotoasimilados en los elementos cribosos como para dirigir el transporte fuera de la hoja. En hojas normales con carga apoplástica, la exportación se inicia cuando:

- La ruta de carga simplástica está bloqueada.
- La hoja está sintetizando fotoasimilados en cantidad suficiente como para hacer posible la exportación.
- Los genes para la síntesis de sacarosa están expresándose.
- El transportador simporte de sacarosa y protones está en la membrana plasmática del complejo elemento criboso-célula de compañía.

En hojas de plantas como la remolacha azucarera y el tabaco, la capacidad de acumular [^{14}C]sacarosa exógena en el complejo elemento criboso-célula de compañía se adquiere cuando las hojas sufren la transición de sumidero a fuente, sugiriendo que el transportador simporte necesario para la carga empieza a ser funcional. En hojas de *Arabidopsis* en desarrollo, se cree que la expresión del transportador simporte que transporta azúcares durante la carga empieza en el extremo y avanza hacia la base durante la transición de sumidero a fuente. El mismo patrón basipétalo se observa en el desarrollo de la capacidad de exportación.

En tabaco y otras especies de *Nicotiana*, las venas menores que son responsables a priori de la mayor parte de la carga, no maduran hasta que el proceso de importación cesa. Así, los azúcares son cargados y descargados casi completamente a través de diferentes venas (Roberts y col. 1997).

En hojas en las que la ruta simplástica de descarga se mantiene para la carga, la transición de importación a exportación es en principio reversible. En hojas variegadas de cóleo, con regiones verdes y albinas, las partes albinas de las hojas maduras retienen muchas características de sumidero. Las regiones verdes de las hojas pueden exportar fotoasimilados a las regiones albinas; si se eliminan las regiones verdes, las regiones albinas pueden importar y descargar azúcares de otras hojas maduras.

ASIGNACIÓN Y REPARTO DE FOTOASIMILADOS

La tasa fotosintética determina la cantidad total de carbono fijado disponible para la hoja. Sin embargo, la cantidad de carbono fijado disponible para el transporte depende de acontecimientos metabólicos posteriores. La regulación de la partición del carbono fijado en las diversas rutas metabólicas se denomina **asignación**.

Los haces vasculares forman un sistema de tuberías que puede dirigir el flujo de fotoasimilados a varios sumideros: hojas jóvenes, tallos, raíces, frutos o semillas. Sin embargo, el sistema vascular con frecuencia está altamente interconectado, formando una red abierta que permite a las hojas fuente comunicarse con numerosos sumideros. En estas condiciones, ¿qué determina el volumen de flujo a un sumidero determinado? La distribución diferencial de fotoasimilados en la planta se denomina **reparto**.

Después de dar una visión general de la asignación y el reparto, examinaremos la coordinación de la síntesis de sacarosa y almidón. Por último, analizaremos cómo los sumideros compiten, cómo la demanda de los sumideros puede regular la tasa fotosintética en las hojas fuente y cómo fuentes y sumideros se comunican entre sí.

La asignación implica la acumulación, utilización y transporte del carbono fijado en la planta

El carbono fijado en una célula fuente puede tener varios destinos:

- *Síntesis de compuestos de reserva.* El almidón se sintetiza y almacena en los cloroplastos y, en la mayoría de las especies, es la primera forma de reserva que se moviliza para el transporte por la noche. Las plantas que almacenan el carbono principalmente en forma de almidón se llaman *acumuladoras de almidón.*
- *Utilización metabólica.* El carbono fijado puede ser utilizado en varios compartimentos de la célula fotosintética para cubrir las necesidades energéticas de la célula o para proporcionar esqueletos carbonados para la síntesis de otros compuestos necesarios.
- *Síntesis de compuestos de transporte.* El carbono fijado puede ser incorporado como azúcares de transporte para la exportación a varios tejidos sumidero. Una parte del azúcar transportado puede también ser almacenado temporalmente en la vacuola (véase el **tema web 10.9**).

La asignación es un proceso clave en los tejidos sumidero. Una vez que los azúcares de transporte se han descargado y entrado en la célula sumidero, éstos pueden permanecer como tales o pueden ser transformados en otros compuestos. En los sumideros de almacenamiento, el carbono fijado puede ser acumulado como sacarosa o hexosa en las vacuolas o como almidón en los amiloplastos. En sumideros en crecimiento, los azúcares pueden ser utilizados para la respiración y para la síntesis de otras moléculas necesarias para el crecimiento.

Los azúcares transportados se reparten entre los diferentes tejidos sumidero

Cuanto mayor es la capacidad de un sumidero para almacenar o metabolizar los azúcares importados (proceso de asignación), mayor es su capacidad para competir por los asimilados exportados por las fuentes. Esta competencia determina la distribución de los azúcares transportados entre los diversos tejidos sumidero de la planta (reparto de asimilados), al menos a corto plazo.

De hecho, los acontecimientos que se producen en las fuentes y sumideros deben estar sincronizados. El reparto determina los patrones de crecimiento, y este patrón de crecimiento debe estar equilibrado entre el crecimiento del vástago (productividad fotosintética) y el crecimiento radical (incorporación de agua y minerales). Por eso un nivel adicional de control recae en la interacción entre las áreas de aporte y de demanda.

La presión de turgencia en los elementos cribosos podría ser un sistema importante de comunicación entre las fuentes y los sumideros, actuando para coordinar la carga y la descarga. Los mensajeros químicos también son importantes para indicarle a un órgano el estado de otro. Estos mensajeros químicos incluyen los reguladores del crecimiento vegetal (hormonas) y nutrientes, como potasio y fosfato e incluso los mismos azúcares de transporte.

La mejora de los rendimientos de los cultivos vegetales es uno de los objetivos del estudio de la asignación y reparto de asimilados. Mientras granos y frutos son ejemplos de cosecha comestible, la cosecha total incluye las partes no comestibles del brote. La comprensión del reparto permitiría que los mejoradores seleccionaran y desarrollaran variedades que optimicen el transporte hacia las porciones comestibles de la planta. Se han conseguido mejoras importantes en la relación entre el rendimiento comercial o comestible y el rendimiento total del brote.

La asignación y el reparto en toda la planta deben estar coordinados, de modo que el aumento del transporte a los tejidos comestibles no tenga lugar a expensas de otros procesos y estructuras esenciales. También se aumentaría el rendimiento si se aumenta la retención de fotoasimilados que normalmente «se pierden» por la planta. Por ejemplo, se pueden reducir las pérdidas debidas a la respiración no esencial o a la exudación desde las raíces. En este último caso, se debe tener mucho cuidado en no alterar procesos esenciales fuera de la planta, como el crecimiento de especies microbianas

beneficiosas que viven en las proximidades de las raíces y que obtienen nutrientes del exudado radical.

La asignación en las hojas fuente está regulada

El aumento de la tasa fotosintética en la hoja fuente provoca generalmente un aumento en la tasa de transporte desde la fuente. Los puntos de control de la asignación de los fotoasimilados (Figura 10.20) incluyen la asignación de las triosas fosfato en los siguientes procesos:

- Regeneración de intermediarios en el ciclo C_3 de reducción fotosintética del carbono (ciclo de Calvin, véase el capítulo 8)

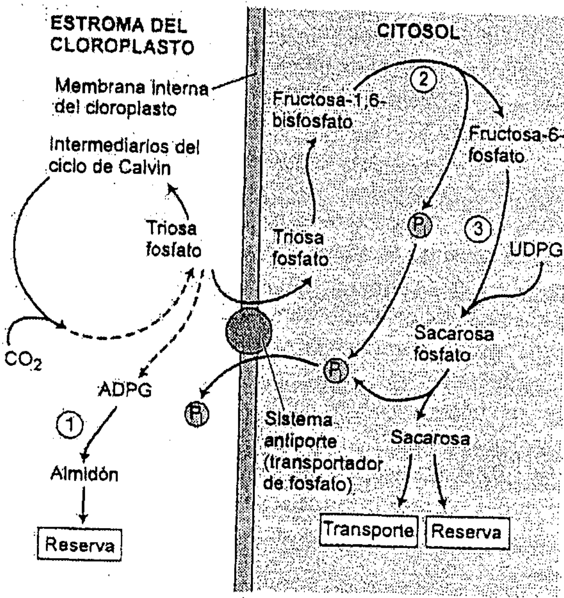


Figura 10.20 Esquema simplificado de la síntesis de sacarosa y almidón durante el día. Las triosas fosfato, formadas en el ciclo de Calvin, pueden ser utilizadas para la formación de almidón en el cloroplasto o ser transportadas al citoplasma por intercambio con el fosfato inorgánico (P_i) a través de un transportador de fosfato en la membrana interna del cloroplasto. La membrana externa del cloroplasto es porosa a las moléculas pequeñas y se omite aquí para mayor claridad. En el citosol, la triosa fosfato puede ser convertida en sacarosa para su almacenamiento en la vacuola o para su transporte. Los enzimas clave implicados son (1) almidón sintetasa, (2) fructosa-1,6-bisfosfatasa y (3) sacarosa fosfato sintasa. El segundo y tercer enzima, junto con la ADP-glucosa pirofosforilasa, que forma la adenosina difosfato glucosa (ADPG), son enzimas reguladores de la síntesis de almidón (véase el capítulo 8). UDPG, uridina difosfato glucosa. (Según Preiss 1982.)

- Síntesis de almidón
- Síntesis de sacarosa, así como la distribución de la sacarosa entre el transporte y el almacenamiento temporal

En estas rutas de procesado de fotoasimilados participan varios enzimas y el control de estas etapas es bastante complejo (Geiger y Servaites 1994).

Durante el día, la tasa de síntesis de almidón en el cloroplasto debe coordinarse con la síntesis de sacarosa en el citosol. Las triosas fosfato (gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato) producidas en el cloroplasto por el ciclo C_3 de Calvin (véase el capítulo 8) pueden ser utilizados para la síntesis de almidón o de sacarosa. La síntesis de sacarosa en el citoplasma desvía las triosas fosfato de la síntesis y almacenamiento de almidón. Por ejemplo, se ha demostrado que cuando la demanda de sacarosa otras partes de una planta de soja es alta, se almacena menos carbono en forma de almidón en las hojas fuente. Los enzimas claves implicados en la regulación de la síntesis de sacarosa en el citoplasma y de la síntesis de almidón en el cloroplasto son la sacarosa fosfato sintasa y la fructosa-1,6-bisfosfatasa en el citoplasma, y la ADP-glucosa pirofosforilasa en el cloroplasto (véase el capítulo 8, figura 10.20 y **tema web 10.9**).

No obstante, hay un límite a la cantidad de carbono que se puede desviar de la síntesis de almidón, sobre todo en especies que almacenan carbono principalmente como almidón. Los estudios bajo diferentes condiciones sugieren que la asignación entre la sacarosa y el almidón, una tasa de transporte durante un período de 24 horas, es una prioridad para la mayoría de las plantas.

El uso de mutantes y plantas transgénicas plantea nuevas cuestiones sobre la asignación. Por ejemplo, ¿qué ocurre cuando uno de los dos procesos que compiten, como la síntesis de almidón, es inhibido o eliminado? Los resultados han revelado la enorme flexibilidad de las plantas. Por ejemplo, los mutantes de tabaco deficientes en almidón, sintetizan sólo trazas de almidón, pero son capaces de compensar la falta de carbono almacenado sintetizando el doble de sacarosa y exportando durante el día, y realizando la mayor parte de su crecimiento durante el día (Geiger y col. 1995). Por otro lado, las plantas con un aumento en la síntesis de almidón durante el día suelen exportar más carbono fijado durante la noche.

Los tejidos sumidero compiten por los fotoasimilados transportados disponibles

Como se analizó anteriormente, el transporte a los tejidos sumidero depende de la posición del sumidero en relación con la fuente y de las conexiones vasculares entre la fuente y el sumidero. Otro factor determinante del patrón de transporte por toda

la planta es la competencia entre sumideros. Por ejemplo, los tejidos reproductivos (semillas) pueden competir con los tejidos vegetativos en crecimiento (hojas jóvenes y raíces) por los fotoasimilados de la corriente de transporte. Esta competencia se ha demostrado a través de numerosos experimentos en los que la eliminación de un tejido sumidero de una planta generalmente provoca un aumento del transporte a sumideros alternativos y por tanto competidores.

El experimento inverso implica una alteración en el aporte de la fuente mientras los tejidos sumidero permanecen intactos. Cuando el aporte de fotoasimilados de las fuentes a los sumideros en competencia se reduce drástica y repentinamente al poner a la sombra todas las hojas fuente, excepto una, los tejidos sumidero dependen ahora de una única fuente. En plantas de remolacha azucarera y de judía las tasas de fotosíntesis y de exportación desde la única hoja fuente se mantienen sin cambios durante un corto período de tiempor (aproximadamente 8 h; Fondy y Geiger 1980). Sin embargo, desde una única fuente las raíces reciben menos azúcares, mientras que las hojas jóvenes reciben relativamente más. En estas condiciones, las hojas jóvenes son sumideros más fuertes que las raíces. Un sumidero más fuerte puede reducir el contenido de azúcar de los elementos cribosos más rápidamente y así aumentar el gradiente de presión y la tasa de transporte hacia sí mismo.

Un efecto del gradiente de presión viene indicado, indirectamente, por los experimentos en los que se aumenta el transporte al sumidero a corto plazo haciendo el potencial hídrico del sumidero más negativo. El tratamiento de los ápices de las raíces de plántulas de guisante con soluciones con 350 mM manitol aumentó la importación de [^{14}C]sacarosa más del 30%, presumiblemente debido a un descenso de la presión de turgencia en las células sumidero (Schulz 1994).

La fuerza del sumidero es función de su tamaño y de su actividad

Varios experimentos indican que la capacidad de un sumidero para movilizar asimilados hacia sí mismo, la **fuerza del sumidero**, depende de dos factores: el tamaño del sumidero y la actividad del sumidero.

$$\text{Fuerza sumidero} = \text{tamaño sumidero} \times \text{actividad sumidero}$$

El **tamaño del sumidero** es el peso total del tejido sumidero y la **actividad del sumidero** es la tasa de incorporación de asimilados por unidad de peso de tejido sumidero. Cambiando el tamaño o la actividad del sumidero se produce un cambio en los patrones de transporte. Por ejemplo, la capacidad de una vaina de guisante para importar carbono depende del peso seco de esa vaina como parte del número total de vainas (Jeuffroy y Warembourg 1991).

Los cambios en la actividad del sumidero pueden ser complejos dado que existen varias actividades de los tejidos sumidero que pueden limitar potencialmente la tasa de incorporación por el sumidero. Estas actividades incluyen la descarga desde los elementos cribosos, el metabolismo en la pared celular, la incorporación desde el apoplasto y los procesos metabólicos que utilizan los fotoasimilados bien para el crecimiento o bien para la acumulación.

El enfriamiento de un tejido sumidero inhibe las actividades que requieren energía metabólica y produce un descenso en la velocidad de transporte hacia el sumidero. En maíz, el mutante con un defecto en el enzima para la síntesis de almidón en los granos transporta menos materia a los granos de la que transporta su equivalente normal (Koch y col. 1982). En este mutante, una deficiencia en la acumulación de asimilados conduce a la inhibición del transporte.

Se cree que la actividad de un sumidero, y con ello su fuerza, está relacionada con la presencia y actividad de los enzimas invertasa ácida y sacarosa sintasa, que rompen la molécula de sacarosa y, por tanto, catalizan el primer paso en la utilización de sacarosa. Actualmente está siendo investigado si estos enzimas controlan la fuerza del sumidero o si simplemente están relacionados con el metabolismo y el crecimiento del sumidero. Cabe destacar que los genes de la sacarosa sintasa e invertasa están entre los regulados por el aporte de carbohidratos. En general, el agotamiento de los carbohidratos aumenta la expresión de los genes de la fotosíntesis, de la movilización de reservas y de los procesos de exportación, mientras que una abundancia de reservas de carbono favorece los genes de almacenamiento y utilización (Koch 1996).

Sin embargo, el descubrimiento de que las diferentes isoformas de la sacarosa sintasa, codificadas por diferentes genes, responden de forma contraria al aporte de carbohidratos, indica que todo el proceso en su conjunto es complejo. Por ejemplo, el mRNA para uno de los genes de la sacarosa sintasa en la raíz de maíz está ampliamnente distribuido en los tejidos radicales, y tiene un máximo de expresión cuando los azúcares son abundantes. El mRNA de un segundo gen de sacarosa sintasa es más abundante en la epidermis y en los tejidos más externos de la raíz, y alcanza un máximo de expresión en condiciones de agotamiento de azúcares. Así, la utilización de los azúcares importados es máxima cuando los azúcares son abundantes, pero cuando el aporte de azúcares es bajo, la utilización está restringida a los sitios esenciales para la incorporación de agua y sales minerales (Koch y col. 1996).

Además, los genes de la invertasa y de la sacarosa sintasa suelen expresarse en momentos diferentes durante el desarrollo del sumidero. En vainas de judía y granos de maíz, se ha encontrado que los cambios de la actividad invertasa suelen preceder a la importación de fotoasimilados. Estos resultados señalan el papel clave de la invertasa y de la sacarosa sintasa en el control de los patrones de importación, ambos durante el programa genético de desarrollo del sumidero y en respuesta a estreses ambientales (véase el **tema web 10.9**).

Los cambios en la relación fuente-sumidero provocan alteraciones de larga duración en la fuente

Cuando todas las hojas fuente de una planta de soja, excepto una, se colocan a la sombra durante un período largo (por ejemplo, 8 días), se producen muchos cambios en la única hoja fuente que queda. Entre ellos está la reducción de la concentración de almidón y el aumento en la tasa de fotosíntesis, actividad rubisco, concentración de sacarosa, transporte desde las fuentes y concentración de ortofosfato (Thorne y Koller 1974). Estos datos indican que, además de los cambios observados a corto plazo en la distribución de fotoasimilados entre diferentes sumideros, el metabolismo de las fuentes se ajusta a los cambios en las condiciones en experimentos de larga duración.

La tasa fotosintética (la cantidad neta de carbono fijada por unidad de área de hoja y unidad de tiempo) con frecuencia aumenta durante varios días cuando aumenta la demanda de los sumideros, y disminuye cuando disminuye la demanda. La fotosíntesis está fuertemente inhibida en condiciones de escasa demanda de sumideros en plantas que normalmente almacenan almidón, más que sacarosa, durante el día. Quizás una acumulación de fotoasimilados (sacarosa, almidón o hexosas) en la hoja fuente podría justificar la relación entre la demanda de sumideros y la tasa de fotosíntesis en plantas que almacenan almidón (véase el **tema web 10.11**).

Las señales a larga distancia pueden coordinar la actividad de fuentes y sumideros

Además de tener una función principal en el transporte de fotoasimilados a larga distancia, el floema es un conducto para el transporte de moléculas señal desde una parte del organismo a otra. Las señales entre fuentes y sumideros pueden ser físicas (como la presión de turgencia) o químicas (como hormonas vegetales y carbohidratos). Las señales que indican cambios en la presión de turgencia podrían transmitirse rápidamente a través del sistema de conexión de los elementos cribosos.

Por ejemplo, si la descarga del floema fuera rápida en condiciones de rápida utilización de azúcares en el tejido sumidero, las presiones de turgencia en los elementos cribosos de los sumideros se reducirían, y esta reducción se transmitiría a las fuentes. Si la carga estuviera controlada en parte por la turgencia en los elementos cribosos de la fuente, aumentaría en respuesta a esta señal desde los sumideros. La respuesta opuesta se observaría cuando la descarga en los sumideros fuera lenta. Algunos datos sugieren que la presión de turgencia puede modificar la actividad de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática y, por tanto, afectar al transporte.

Los vástagos producen reguladores de crecimiento como auxinas (véase el capítulo 19), que pueden ser rápidamente transportadas a las raíces a través del floema; y las raíces producen citoquininas (véase el capítulo 21), que se trasladan a los vástagos a través del xilema. Las giberelinas (GA) y el ácido abscísico (ABA) (véanse los capítulos 20 y 23) también se transportan por toda la planta a través del sistema vascular. Las hormonas vegetales participan en la regulación de las relaciones fuente-sumidero. Afectan al reparto de fotoasimilados al controlar el crecimiento de los sumideros, la senescencia foliar y otros procesos de desarrollo.

La carga de sacarosa en ricino es estimulada por auxinas exógenas e inhibida por ABA, mientras el ABA exógeno aumenta y la auxina inhibe, la incorporación de sacarosa en los tejidos de la raíz de remolacha azucarera. Los transportadores activos en la membrana plasmática son dianas evidentes para la regulación de la carga y de la descarga apoplástica por hormonas. Otros sitios potenciales de regulación hormonal de la descarga son los transportadores del tonoplasto, los enzimas del metabolismo de la sacarosa importada, la extensibilidad de la pared y la permeabilidad de los plasmodesmos en el caso de una descarga simplástica (véase la sección siguiente).

Como indicamos anteriormente, los niveles de carbohidratos pueden influir en la expresión de genes que codifican componentes de la fotosíntesis, así como en genes implicados en la hidrólisis de sacarosa. Se ha comprobado que hay muchos genes que responden al agotamiento y abundancia de azúcares (Koch 1996). Así, no sólo la sacarosa transportada en el floema, sino también la sacarosa o sus metabolitos pueden actuar como señales que modifican las actividades de fuentes y sumideros. En la remolacha azucarera, por ejemplo, la actividad del transportador simporte de sacarosa y protones disminuye en las vesículas aisladas de la membrana plasmática de hojas fuente a las que se les ha aportado sacarosa exógena por el xilema.

La pérdida de la actividad del transportador simporte está acompañada de una disminución de su mRNA, sugiriendo un efecto sobre la transcripción o la estabilidad del mRNA. Un modelo de trabajo incluye las siguientes etapas: (1) Una disminución en la demanda del sumidero conduce a niveles altos de sacarosa en el tejido vascular; (2) niveles altos de sacarosa conducen a una inhibición del transportador simporte en la fuente; (3) una carga reducida provoca un aumento en la concentración de sacarosa en la fuente (Chiou y Bush 1998). El aumento de las concentraciones de sacarosa en la fuente puede provocar una reducción de la tasa de fotosíntesis (véase el **tema web 10.11**). El aumento de la acumulación de almidón observado en las hojas fuente de plantas transformadas con el DNA antisentido del transportador simporte de sacarosa, SUT1, apoya este modelo (Schulz y col. 1998).

En algunos sistemas fuente-sumidero, se ha demostrado que los azúcares y otros metabolitos interactuan con señales hormonales para controlar la expresión génica (Thomas y Rodriguez 1994).

Las señales a larga distancia también pueden regular el crecimiento y el desarrollo vegetal

Es de sobra conocido que los virus se pueden mover por el floema, viajando como complejos de proteínas y ácidos nucleicos o como partículas víricas intactas. Más recientemente, se han encontrado moléculas de mRNA endógeno y de proteínas en la savia del floema, y al menos algunas de ellas se consideran moléculas señalizadoras.

La siguiente ruta parece estar abierta al movimiento de macromoléculas a largas distancias: desde las células de compañía de las fuentes a los elementos cribosos fuente, a través de la ruta a los elementos cribosos sumidero, a las células de compañía del sumidero y, finalmente, a las células sumidero mismas.

Las proteínas sintetizadas en las células de compañía pueden entrar en los elementos cribosos a través de los plasmodesmos que conectan los dos tipos de células. Como señalamos antes, el transportador SUT1 de la membrana plasmática del elemento criboso y las proteínas P en la savia de *Cucurbita* (PP1 y PP2) parecen sintetizarse en las células de compañía. Los plasmodesmos que conectan las células de compañía y los elementos cribosos deben así permitir que estas macromoléculas se muevan a través de ellos. Las partículas virales se han detectado en los plasmodesmos.

Algunas de las proteínas que entran en los elementos cribosos pueden difundir simplemente a través de los plasmodesmos a los elementos cribosos, otras pueden mediar su propio transporte célula a célula, e incluso otras pueden ser ayudadas por proteínas específicas de control (Mezitt y Lucas 1996). El movimiento pasivo de proteínas desde las células de compañía a los elementos cribosos se ha demostrado en plantas de *Arabidopsis* y de tabaco, transformadas con el gen de la proteína fluorescente verde (GFP) de medusa, bajo el control del promotor de SUC2 de *Arabidopsis*.

El transportador simporte de sacarosa y protones SUC2 se sintetiza en las células de compañía, por eso, las proteínas expresadas bajo este promotor se sintetizan en las células de compañía. La GFP, localizada por su fluorescencia tras haber sido excitada con luz del azul, se mueve a través de los plasmodesmos desde las células de compañía a los elementos cribosos, y migra en el floema hasta los tejidos sumidero. Como la GFP de medusa es improbable que posea secuencias específicas para su interacción con las estructuras de los plasmodesmos, su movimiento a los elementos cribosos ocurre probablemente por difusión pasiva (Imlau y col. 1999).

Una vez en los elementos cribosos, algunas proteínas (por ejemplo, SUT1) se dirigen a la membrana plasmática o a otras localizaciones celulares, mientras que otras proteínas se mueven a través de la corriente de transporte a los tejidos sumidero. Las proteínas que se mueven por el floema al sumidero incluyen las proteínas P, PP1 y PP2. Las subunidades de las proteínas P de pepino (*Cucumis sativus*) se pueden mover a través los injertos desde el patrón de pepino (parte basal del injerto) a un vástago de calabaza (*Cucúrbita maxima*) (parte superior del injerto). Un experimento demostró que la proteína PP2 más pequeña es capaz de moverse desde los elementos cribosos a las células de compañía en el tallo del injerto; la proteína PP1 mayor no se detectó en las células de compañía. Ninguna proteína fue capaz de moverse más allá del complejo elemento criboso-célula de compañía (Golecki y col. 1999). Es posible que estas proteínas sean demasiado grandes para pasar a través de los plasmodesmos que rodean el complejo elemento criboso-célula de compañía, o carecen de los factores de reconocimiento que permitan interaccionar con los plasmodesmos (Oparka y Santa cruz 2000). Por el contrario, la proteína fluorescente verde de medusa se descarga simplásticamente a través de los plasmodesmos en los tejidos sumidero, como las cubiertas seminales, anteras, ápices radicales y células del mesofilo en hojas importadoras (Imlau y col. 1999).

Claramente, las proteínas pueden ser transportadas desde las células de compañía de la fuente a través de los elementos cribosos a las células de compañía del sumidero. No obstante, existen pocas evidencias de un movimiento similar de proteínas sintetizadas fuera de las células de compañía. Otras señales externas al complejo elemento criboso-célula de compañía pueden aumentar la producción de proteínas móviles en las células de compañía. También existen evidencias del transporte en el floema de moléculas de mRNA que están implicadas en el desarrollo de tejidos sumidero (Oparka y Santa Cruz 2000). Para asignarle una función en la señalización en la planta, una macromolécula ha de ser capaz de abandonar el complejo elemento criboso-célula de compañía en los tejidos sumidero y, quizás más importante aún, ser capaz de modificar las funciones de células específicas en el sumidero (Oparka y Santa Cruz 2000). Estas afirmaciones aún deben ser confirmadas experimentalmente.

Los plasmodesmos pueden ejercer un control dinámico de la difusión intercelular de moléculas pequeñas (Luca y col. 1993; Baluska y col. 2001). RNA y proteínas también pueden moverse de célula a célula a través de los plasmodesmos. Las «proteínas de movimiento» codificadas por los virus interaccionan directamente con los plasmodesmos para permitir el paso de los ácidos nucleicos virales. Las plantas de patata transformadas con la proteína de movimiento del virus del mosaico del tabaco tienen alterados los patrones de asignación en las hojas fuente (Olesinski y col. 1996) y modificados los patrones de reparto en la planta (Almon y col. 1997). La modificación de la asignación en la hoja fuente depende de si la proteína de movimiento se expresa en las células del mesofilo y en las de la vaina del haz, o en las células del parénquima floemático y en las células de compañía.

Los plasmodesmos están implicados en prácticamente todos los aspectos del transporte en el floema, desde la carga para el transporte a larga distancia (recuérdese que los poros en las áreas cribosas y en las placas cribosas son plasmodesmos modificados) hasta la asignación y reparto. Las investigaciones futuras sobre el transporte en el floema y las funciones de los plasmodesmos en el crecimiento vegetal avanzarán seguramente en paralelo.

RESUMEN

El transporte en el floema es el movimiento de los productos de la fotosíntesis desde las hojas maduras hasta las zonas de crecimiento y almacenamiento. El floema también sirve para redistribuir el agua y varios componentes a través de toda la planta.

Algunos aspectos del transporte por el floema están bien establecidos por las numerosas investigaciones realizadas a lo largo de muchos años. Éstos incluyen:

- *La ruta de transporte.* Los azúcares y otros materiales orgánicos son conducidos por toda la planta a través del floema, específicamente en células llamadas elementos cribosos. Los elementos cribosos muestran una variedad de adaptaciones estructurales que los hacen adecuados al transporte.
- *Los patrones de transporte.* Los materiales se transportan por el floema desde las fuentes (áreas de suministro de fotoasimilados) a los sumideros (áreas de metabolismo o almacén de fotoasimilados). Las fuentes suelen ser las hojas maduras. Los sumideros incluyen órganos como las raíces, las hojas inmaduras y los frutos.
- *Materiales transportados por el floema.* Los solutos transportados son principalmente carbohidratos y la sacarosa es el principal azúcar transportado. La savia del floema también contiene otras moléculas orgánicas como aminoácidos, proteínas y hormonas vegetales, así como iones inorgánicos.
- *Tasas de movimiento.* Las tasas de movimiento por el floema son bastante altas y superiores a la velocidad de difusión. Las velocidades promedio son de 1 m h^{-1} y la tasa de transferencia de masa es de 1 a 15 g h^{-1} cm^{-2} en el elemento criboso.

Otros aspectos del transporte en el floema requieren más investigación, y la mayoría de ellos están siendo investigados actualmente. Entre ellos están:

- *La carga y descarga del floema.* El transporte de azúcares dentro y fuera de los elementos cribosos se denomina carga y descarga del elemento criboso, respectivamente. En algunas especies, los azúcares deben entrar en el apoplasto de la hoja fuente antes de la carga. En estas plantas, la carga en los elementos cribosos requiere energía metabólica, proporcionada por un gradiente de protones. En otras especies, toda la ruta, desde las células que realizan la fotosíntesis a los elementos cribosos, ocurre en el simplasto de la hoja fuente. En cualquier caso, la carga del floema es específica para el azúcar transportado. La descarga del floema requiere energía metabólica, pero la ruta de transporte, el sitio del metabolismo de los azúcares transportados, y el lugar donde se expende la energía, varía con el órgano y las especies.

- *El mecanismo de transporte.* El flujo de presión es el mecanismo aceptado como más probable para explicar el transporte por el floema. En este modelo, el flujo de masas de la savia del floema se produce en respuesta al gradiente de presión generado osmóticamente. Existen una gran cantidad de datos estructurales y fisiológicos que indican que los materiales son transportados en el floema de las angiospermas por el flujo de presión. El mecanismo de transporte en las gimnospermas todavía requiere más investigaciones.
- *Asignación y reparto de los fotoasimilados.* La asignación es la regulación de la cantidad de carbono fijado que es canalizada hacia las diferentes rutas metabólicas. En las fuentes, los mecanismos reguladores de la asignación determinan la cantidad de carbono fijado que se almacenará (normalmente como almidón), se metabolizará en las células de la fuente o será inmediatamente transportada a los tejidos sumideros. En los sumideros, los azúcares de transporte se asignan a procesos de crecimiento o de almacenamiento. El reparto es la distribución diferencial de fotoasimilados por toda la planta. Los mecanismos de reparto determinan las cantidades de carbono fijado suministradas a tejidos sumideros específicos. La carga y descarga del floema y la asignación y reparto de los asimilados son grandes puntos de interés debido a su importancia en la productividad de los cultivos.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

10.1 Estudios clásicos del transporte en el floema
Experimentos clásicos que ilustran algunos aspectos básicos de las propiedades del transporte por el floema.

10.2 Muestreo de savia del floema
Los estiletes de los áfidos se ajustan perfectamente al muestreo de savia floemática.

10.3 El transporte del nitrógeno en soja
Los compuestos nitrogenados sintetizados en las raíces son transferidos desde el xilema al floema.

10.4 El seguimiento del tráfico de azúcares libres
Se midieron las tasas de transporte de azúcar en el floema utilizando marcadores radiactivos.

10.5 Evidencias de la carga apoplástica de los elementos cribosos
Las plantas transgénicas han proporcionado una prueba experimental para la carga apoplástica

10.6 Algunas sustancias entran en el floema por difusión
Sustancias como las hormonas vegetales pueden entrar en el floema por difusión.

10.7 Localización del transportador simporte de sacarosa y protones en el floema de cargadores apoplásticos
El transportador simporte de sacarosa y protones de las células de compañía se ha localizado usando colorantes fluorescentes.

10.8 Evidencias fisiológicas de la continuidad simplástica en las hojas fuente
Los colorantes fluorescentes también se han empleado para demostrar la continuidad simplástica en hojas fuente.

10.9 Azúcares en el floema
El transporte, asignación y metabolismo de los azúcares del floema está fuertemente regulado.

10.10 Requerimientos energéticos para la descarga en semillas en desarrollo y en órganos de almacenamiento
La descarga de azúcares de almacenamiento de semillas a embriones está mediada por transporte activo.

10.11 Posibles mecanismos de relación entre la demanda en el sumidero y la tasa de fotosíntesis en plantas acumuladoras de almidón
La acumulación de fotoasimilados aumenta la demanda del sumidero.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Almon E., Horowit M., Wang H.-L., Lucas W. J., Zamski E. y Wolf S. (1997) Phloem-specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein alters carbon metabolism and partitioning in transgenic potato plants. *Plant Physiol.* 115: 1599–1607.

Baluska F., Cvrckova F., Kendrick-Jones J. y Volkmann D. (2001) Sink plasmodesmata as gateways for phloem unloading. Myosin VIII and calreticulin as molecular determinants of sink strength? *Plant Physiol.* 126: 39–46.

Barker L., Kuehn C., Weise A., Schulz A., Gebhardt C., Hirner B., Hellmann H., Schulze W., Ward J. M. y Frommer W. B. (2000) SUT2, a putative sucrose sensor in sieve elements. *Plant Cell* 12: 1153–1164.

Bostwick D. E., Dannenhoffer J. M., Skaggs M. I., Lister R. M., Larkins B. A. y Thompson G. A. (1992) Pumpkin phloem lectin genes are specifically expressed in companion cells. *Plant Cell* 4: 1539–1548.

Bouche-Pillon S., Fleurat-Lessard P., Fromont J.-C., Serrano R. y Bonnemain J.-L. (1994) Immunolocalization of the plasma membrane H^+-ATPase in minor veins of *Vicia faba* in relation to phloem loading. *Plant Physiol.* 105: 691–697.

Brentwood B. y Cronshaw J. (1978) Cytochemical localization of adenosine triphosphatase in the phloem of *Pisum sativum* and its relation to the function of transfer cells. *Planta* 140: 111–120.

Chiou T.-J. y Bush D. R. (1998) Sucrose is a signal molecule in assimilate partitioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 4784–4788.

Clark A. M., Jacobsen K. R., Bostwick D. E., Dannenhoffer J. M., Skaggs M. I. y Thompson G. A. (1997) Molecular characterization of a phloem-specific gene encoding the filament protein, phloem protein 1 (PP1), from *Cucurbita maxima*. *Plant J.* 12: 49–61.

DeWitt N. D. y Sussman M. R. (1995) Immunocytological localization of an epitope-tagged plasma membrane proton pump (H^+-ATPase) in phloem companion cells. *Plant Cell* 7: 2053–2067.

Eschrich W. (1975) Bidirectional transport. En *Transport in Plants*, 1: *Phloem Transport* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 1), M. H. Zimmermann y J. A. Milburn, eds., Springer, New York, págs. 245–255.

Evert R. F. (1982) Sieve-tube structure in relation to function. *BioScience* 32: 789–795.

Evert R. F. y Mierzwa R. J. (1985) Pathway(s) of assimilate movement from mesophyll cells to sieve tubes in the *Beta vulgaris* leaf. En *Phloem Transport. Proceedings of an International Conference on Phloem Transport, Asilomar, CA*, J. Cronshaw, W. J. Lucas y R. T. Giaquinta, eds. Liss, New York, págs. 419–432.

Fisher D. B. (1978) An evaluation of the Munch hypothesis for phloem transport in soybean. *Planta* 139: 25–28.

Flora L. L. y Madore M. A. (1996) Significance of minor-vein anatomy to carbohydrate transport. *Planta* 198: 171–178.

Fondy B. R. (1975) Sugar selectivity of phloem loading in *Beta vulgaris*, *vulgaris* L. and *Fraxinus americanus*, *americana* L. Thesis, University of Dayton, Dayton, OH.

Fondy B. R. y Geiger D. R. (1980) Effect of rapid changes in sink–source ratio, on export and distribution of products of photosynthesis in leaves of *Beta vulgaris* L. and *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.* 66: 945–949.

Geiger D. R. y Servaites J. C. (1994) Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C_3 plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 235–256.

Geiger D. R. y Sovonick S. A. (1975) Effects of temperature, anoxia and other metabolic inhibitors on translocation. En *Transport in Plants*, 1: *Phloem Transport* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 1), M. H. Zimmerman y J. A. Milburn, eds., Springer, New York, págs. 256–286.

Geiger D. R., Giaquinta R. T., Sovonick S. A. y Fellows, R. J. (1973) Solute distribution in sugar beet leaves in relation to phloem loading and translocation. *Plant Physiol.* 52: 585–589.

Geiger D. R., Shieh W.-J. y Yu X.-M. (1995) Photosynthetic carbon metabolism and translocation in wild-type and starch-deficient mutant *Nicotiana sylvestris* L. *Plant Physiol.* 107: 507–514.

Giaquinta R. T. y Geiger D. R. (1977) Mechanism of cyanide inhibition of phloem translocation. *Plant Physiol.* 59: 178–180.

Goggin F. L., Medville R. y Turgeon R. (2001) Phloem loading in the tulip tree: Mechanisms and evolutionary implications. *Plant Physiol.* 124: 891–899.

Golecki B., Schulz A. y Thompson G. A. (1999) Translocation of structural P proteins in the phloem. *Plant Cell* 11: 127–140.

Grusak M. A., Beebe D. U. y Turgeon R. (1996) Phloem loading. En *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops: Source–Sink Relationships*, E. Zamski y A. A. Schaffer, eds., Dekker, New York, págs. 209–227.

Hall S. M. y Baker D. A. (1972) The chemical composition of *Ricinus* phloem exudate. *Planta* 106: 131–140.

Imlau A., Truernit E. y Sauer N. (1999) Cell-to-cell and long-distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissues. *Plant Cell* 11: 309–322.

Jeuffory M.-H. y Warembourg F. R. (1991) Carbon transfer and partitioning between vegetative and reproductive organs in *Pisum sativum* L. *Plant Physiol.* 97: 440–448.

Joy K. W. (1964) Translocation in sugar beet. I. Assimilation of $^{14}CO_2$ and distribution of materials from leaves. *J. Exp. Bot.* 15: 485–494.

Knoblauch M. y Van Bel A. J. E. (1998) Sieve tubes in action. *Plant Cell* 10: 35–50.

Koch K. E. (1996) Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 509–540.

Koch K. E., Tsui C.-L., Schrader L. E. y Nelson O. E. (1982) Source–sink relations in maize mutants with starch deficient endosperms. *Plant Physiol.* 70: 322–325.

Koch K. E., Wu Y. y Xu J. (1996) Sugar and metabolic regulation of genes for sucrose metabolism: Potential influence of maize sucrose synthase and soluble invertase responses on carbon partitioning and sugar sensing. *J. Exp. Bot.* 47 (special issue): 1179–1185.

Kuehn C., Franceschi V. R., Schulz A., Lemoine R. y Frommer W. B. (1997) Macromolecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements. *Science* 275: 1298–1300.

Lalonde S., Boles E., Hellmann H., Barker L., Patrick J. W., Frommer W. B. y Ward J. M. (1999) The dual function of sugar carriers: Transport and sugar sensing. *Plant Cell* 11: 707–726.

Langhans M., Ratajczak R., Luetzelschwab M., Michalke W., Waechter R., Fischer-Schliebs E. y Ullrich C. I. (2001) Immunolocalization of plasma-membrane H^+-ATPase and tonoplast-type pyrophosphatase in the plasma membrane of the sieve element-companion cell complex in the stem of *Ricinus communis* L. *Planta* 213: 11–19.

Lucas W. J., Ding B. y Van der Schoot C. (1993) Plasmodesmata and the supracellular nature of plants. *New Phytol.* 125: 435–476.

Mezitt L. A. y Lucas W. J. (1996) Plasmodesmal cell-to-cell transport of proteins and nucleic acids. *Plant Mol. Biol.* 32: 251–273.

Münch E. (1930) *Die Stoffbewegungen in der Pflanze*. Gustav Fischer, Jena, Germany.

Nobel P. S. (1991) *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press San Diego, CA.

Olesinski A. A., Almon E., Navot N., Perl A., Galun E., Lucas W. J. y Wolf S. (1996) Tissue-specific expression of the tobacco mosaic virus movement protein in transgenic potato plants alters plasmodesmal function and carbohydrate partitioning. *Plant Physiol.* 111: 541–550.

Oparka K. J. y Santa Cruz S. (2000) The great escape: Phloem transport and unloading of macromolecules. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 323–347.

Oparka K. J. y van Bel A. J. E. (1992) Pathways of phloem loading and unloading: a plea for a uniform terminology. En *Carbon Partitioning within and between Organisms*, C. J. Pollock, J. F. Farrar y A. J. Gordon, eds., BIOS Scientific, Oxford, págs. 249–254.

Preiss J. (1982) Regulation of the biosynthesis and degradation of starch. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 431–454.

Roberts A. G., Santa Cruz S., Roberts I. M., Prior D. A. M., Turgeon R. y Oparka K. J. (1997) Phloem unloading in sink leaves of *Nicotiana benthamiana*: Comparison of a fluorescent solute with a fluorescent virus. *Plant Cell* 9: 1381–1396.

Schobert C., Grossmann P., Gottschalk M., Komor E., Pecsvaradi A. y zur Nieden U. (1995) Sieve-tube exudate from *Ricinus communis* L. seedlings contains ubiquitin and chaperones. *Planta* 196: 205–210.

Schulz A. (1990) Conifers. En *Sieve Elements: Comparative Structure, Induction and Development*. H.-D. Behnke y R. D. Sjolund, eds. Springer-Verlag, Berlin.

Schulz A. (1992) Living sieve cells of conifers as visualized by confocal, laser-scanning fluorescence microscopy. *Protoplasma* 166: 153–164.

Schulz A. (1994) Phloem transport and differential unloading in pea seedlings after source and sink manipulations. *Planta* 192: 239–248.

Schulz A., Kuhn C., Riesmeier J. W. y Frommer W. B. (1998) Ultrastructural effects in potato leaves due to antisense-inhibition of the sucrose transporter indicate an apoplasmic mode of phloem loading. *Planta* 206: 533–543.

Stadler R., Brandner J., Schulz A., Gahrtz M. y Sauer N. (1995) Phloem loading by the PmSUC2 sucrose carrier from *Plantago major* occurs into companion cells. *Plant Cell* 7: 1545–1554.
Thomas B. R. y Rodriguez R. L. (1994) Metabolite signals regulate gene expression and source/sink relations in cereal seedlings. *Plant Physiol.* 106: 1235–1239.
Thorne J. H. y Koller H. R. (1974) Influence of assimilate demand on photosynthesis, diffusive resistances, translocation, and carbohydrate levels of soybean leaves. *Plant Physiol.* 54: 201–207.
Truernit E. y Sauer N. (1995) The promoter of the *Arabidopsis thaliana* SUC2 sucrose-H^+ symporter gene directs expression of b-glucuronidase to the phloem: Evidence for phloem loading and unloading by SUC2. *Planta* 196: 564–570.
Turgeon R. (1984) Termination of nutrient import and development of vein loading capacity in albino tobacco leaves. *Plant Physiol.* 76: 45–48.
Turgeon R. y Gowan E. (1990) Phloem loading in *Coleus blumei* in the absence of carrier-mediated uptake of export sugar from the apoplast. *Plant Physiol.* 94: 1244–1249.
Turgeon R. y Webb J. A. (1973) Leaf development and phloem transport in *Cucurbita pepo*: Transition from import to export. *Planta* 113: 179–191.
Turgeon R., Beebe D. U. y Gowan E. (1993) The intermediary cell: Minor-vein anatomy and raffinose oligosaccharide synthesis in the Scrophulariaceae. *Planta* 191: 446–456.
Turgeon R., Medville R. y Nixon K. C. (2001) The evolution of minor vein phloem and phloem loading. *Am. J. Bot.* 88: 1331–1339.
van Bel A. J. E. (1992) Different phloem-loading machineries correlated with the climate. *Acta Bot. Neerl.* 41: 121–141.
van Bel A. J. E., Gamalei Y. V., Ammerlaan A. y Bik L. P. M. (1992) Dissimilar phloem loading in leaves with symplasmic or apoplasmic minor-vein configurations. *Planta* 186: 518–525.
Warmbrodt R. D. (1985) Studies on the root of *Hordeum vulgare* L.—Ultrastructure of the seminal root with special reference to the phloem. *Am. J. Bot.* 72: 414–432.
Weise A., Barker L., Kuehn C., Lalonde S., Buschmann H., Frommer W. B. y Ward J. M. (2000) A new subfamily of sucrose transporters, SUT4, with low affinity/high capacity localized in enucleate sieve elements of plants. *Plant Cell* 12: 1345–1355.
Wright J. P. y Fisher D. B. (1980) Direct measurement of sieve tube turgor pressure using severed aphid stylets. *Plant Physiol.* 65: 1133–1135.
Yoo B.-C., Aoki K., Xiang Y., Campbell L. R., Hull R. J., Xoconostle-Cazares B., Monzer J., Lee J.-Y., Ullman D. E. y Lucas W. J. (2000) Characterization of *Cucurbita maxima* phloem serpin-1 (CmPS-1): A developmentally regulated elastase inhibitor. *J. Biol. Chem.* 275: 35122–35128.
Zimmermann M. H. y Milburn J. A., eds. (1975) *Transport in Plants*, 1: *Phloem Transport* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 1). Springer, New York.

CAPÍTULO 11

RESPIRACIÓN Y METABOLISMO LIPÍDICO

La fotosíntesis proporciona los elementos orgánicos básicos de los que dependen las plantas (y casi todas las demás formas de vida). La respiración, junto con el metabolismo del carbono, libera la energía almacenada en dichos compuestos orgánicos de una forma controlada para ser utilizada a nivel celular. Al mismo tiempo genera muchos precursores para procesos de biosíntesis. En la primera parte de este capítulo analizaremos la respiración en su contexto metabólico, destacando las relaciones y características peculiares de las plantas. También relacionaremos la respiración con los últimos descubrimientos de la bioquímica y la biología molecular de la mitocondria vegetal.

En la segunda parte del capítulo describiremos las rutas biosintéticas de lípidos que son acumulados como grasas y aceites, y que muchas plantas utilizan como reserva. También revisaremos la síntesis de lípidos, así como su influencia en las propiedades de las membranas. Finalmente, analizaremos las rutas catabólicas implicadas en la degradación de lípidos y la conversión, durante la germinación de la semilla, de los productos de degradación en azúcares.

VISIÓN GENERAL DE LA RESPIRACIÓN

La respiración aeróbica (que requiere oxígeno) es común a casi todos los organismos eucariotas y, en líneas generales, el proceso respiratorio en plantas superiores es similar al encontrado en animales y eucariotas inferiores. No obstante, algunos aspectos específicos de la respiración vegetal la distinguen de su equivalente animal. La **respiración aeróbica** es el proceso biológico por el cual los compuestos orgánicos reducidos son movilizados y posteriormente oxidados de modo controlado. Durante la respiración, la energía libre es liberada y almacenada en un compuesto, el ATP, que puede ser rápidamente utilizado para el mantenimiento y desarrollo de la planta.

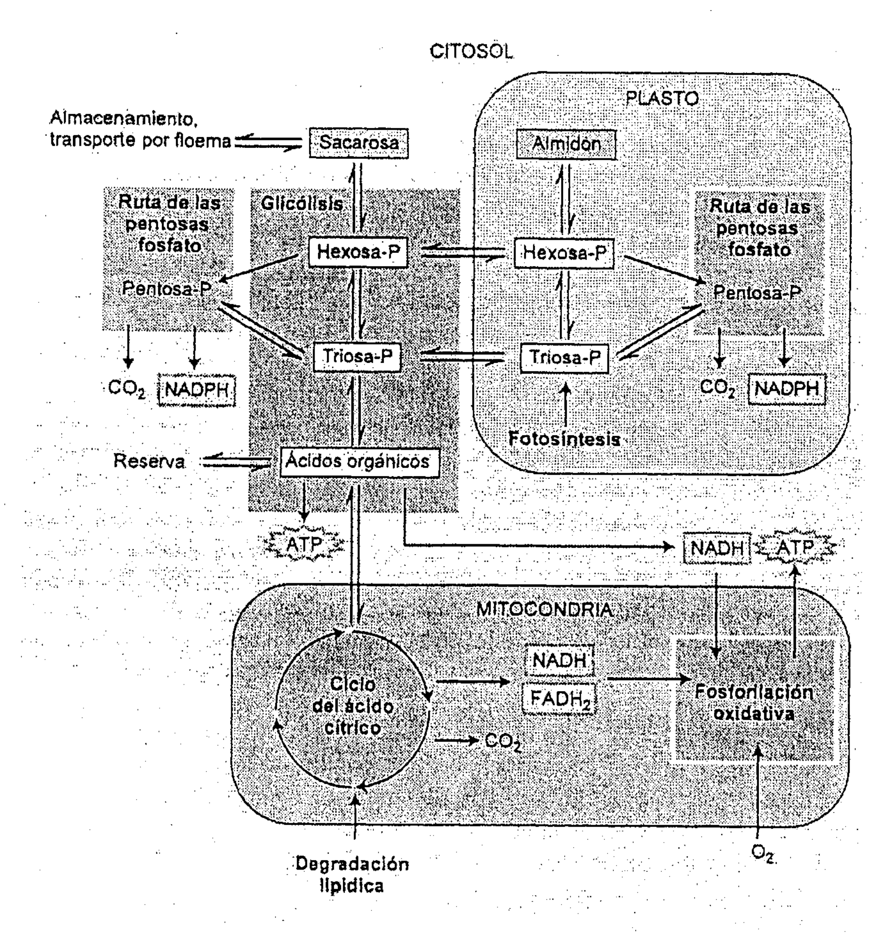


Figura 11.1 Esquema general de la respiración. Los sustratos de la respiración se generan en otros procesos celulares y entran en las rutas respiratorias. La glicólisis y la ruta de las pentosas fosfato en el citosol y los plastos convierten azúcares en ácidos orgánicos, a través de las hexosas fosfato y las triosas fosfato, a la vez que generan NADH o NADPH y ATP. Los ácidos orgánicos son oxidados en el ciclo del ácido cítrico de la mitocondria y el NADH y $FADH_2$ producidos proporcionan la energía necesaria para la síntesis del ATP en la cadena de transporte electrónico y por la ATP sintasa en la fosforilación oxidativa. En la gluconeogénesis, el carbono de los lípidos es descompuesto en los glioxisomas, metabolizado en el ciclo del ácido cítrico y después utilizado para sintetizar azúcares en el citosol por glicólisis inversa.

Se suele mencionar a la glucosa como el principal sustrato de la respiración. Sin embargo, en una célula vegetal funcional, el carbono reducido deriva de diversas fuentes como el disacárido sacarosa, hexosas fosfato y triosas fosfato derivadas de la degradación del almidón y de la fotosíntesis, polímeros que contienen fructosa (fructosanos) y otros azúcares, así como de lípidos (sobre todo triacilglicéridos), ácidos orgánicos y, en ocasiones, proteínas (Figura 11.1).

Desde un punto de vista químico, la respiración vegetal se suele expresar en términos de la oxidación de una molécula de sacarosa de 12 carbonos y la reducción de 12 moléculas de O_2:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 13\ H_2O \rightarrow 12\ CO_2 + 48\ H^+ + 48\ e^-$$
$$12\ O_2 + 48\ H^+ + 48\ e^- \rightarrow 24\ H_2O$$

siendo la reacción global:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 12\ O_2 \rightarrow 12\ CO_2 + 11\ H_2O$$

Esta ecuación es la inversa de la que resume el proceso fotosintético. Representa una reacción redox en la cual una molécula de sacarosa se oxida totalmente a CO_2, mientras el oxígeno actúa como último aceptor de electrones, siendo reducido a agua. La energía libre estándar para la reacción implica la liberación de 5 760 kJ (1 380 kcal) por mol de sacarosa oxidada (342 g). Esta liberación controlada de energía libre y su acoplamiento a la síntesis de ATP son las principales funciones del metabolismo respiratorio, aunque no las únicas.

Para prevenir el daño de las estructuras celulares, la célula moviliza grandes cantidades de energía libre, liberadas en la oxidación de la glucosa en una serie de reacciones secuenciales. Estas reacciones se pueden agrupar en cuatro procesos principales: glicólisis, el ciclo del ácido cítrico, las reacciones de la ruta de las pentosas fosfato y la fosforilación oxidativa. Los sustratos de la respiración entran en el proceso respiratorio en distintos puntos de la ruta, tal y como se resume en la figura 11.1:

- La **glicólisis** implica una serie de reacciones llevadas a cabo por un grupo de enzimas solubles localizados en el citosol y en el plasto. Un azúcar, por ejemplo la sacarosa, se oxida parcialmente vía un azúcar-fosfato de seis carbonos (hexosa fosfato) y a continuación un azúcar fosfato de tres carbonos (triosa fosfato) para producir un ácido orgánico, por ejemplo, el piruvato. El proceso libera algo de energía como ATP y poder reductor en forma de un nucleótido pirimidínico reducido, el NADH.
- En la **ruta de las pentosas fosfato**, también localizada en el citosol y en el plasto, la glucosa-6-fosfato (de seis carbonos) es oxidada inicialmente a ribulosa-5-fosfato (de cinco carbonos). El carbono se pierde como CO_2 y se conserva poder reductor en forma de dos moléculas de otro nucleótido pirimidínico reducido, el NADPH. En las siguientes reacciones cercanas al equilibrio, la ribulosa-5-fosfato es transformada en azúcares de tres a siete carbonos.

- En el **ciclo del ácido cítrico**, el piruvato se oxida completamente a CO_2 y se genera una cantidad considerable de poder reductor (16 equivalentes de NADH y 4 $FADH_2$ por molécula de sacarosa). Con una excepción (succinato deshidrogenasa), estas reacciones implican una serie de enzimas solubles localizados en el compartimento acuoso interno, o matriz, de la mitocondria (véase la figura 11.5). Como analizaremos más adelante, la succinato deshidrogenasa se localiza en la membrana más interna de las dos que posee la mitocondria.
- En la fosforilación oxidativa, los electrones son transferidos a una **cadena de transporte electrónico**, que consta de una serie de proteínas de transporte de electrones unidas a la membrana mitocondrial más interna de las dos que posee. Este sistema transfiere los electrones desde el NADH (y moléculas relacionadas) al oxígeno. El poder reductor se ha producido en la glicólisis, la ruta de las pentosas fosfato y el ciclo del ácido cítrico. La transferencia de electrones libera una gran cantidad de energía libre, gran parte de la cual es convertida en ATP a partir de ADP y P_i (fosfato inorgánico), reacción catalizada por la **ATP sintasa**. Este paso final completa la oxidación de la glucosa. El conjunto de todas las reacciones redox de la cadena de transporte electrónico y de la síntesis de ATP se denomina **fosforilación oxidativa**. Esta etapa final completa la oxidación de la sacarosa.

El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+/NADH) es un cofactor orgánico (coenzima) asociado a muchos enzimas que catalizan reacciones celulares redox. El NAD^+ es la forma oxidada del cofactor y experimenta una reacción reversible de captura de dos electrones que produce NADH (Figura 11.2):

$$NAD^+ + 2e^- + 2H^+ \leftrightarrow NADH + H^+$$

El potencial estándar de reducción de este par redox es de –320 mV, que es un potente agente reductor (dador de electrones). Así, el NADH es una buena molécula para almacenar la energía libre de los electrones liberados durante las oxidaciones de la glicólisis y el ciclo del ácido cítrico. Un compuesto relacionado, el fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina ($NADP^+$/NADPH), participa en las reacciones redox de la fotosíntesis (véase el capítulo 8) y de la ruta oxidativa de las pentosas fosfato; también participa en el metabolismo de la mitocondria (Møller y Rasmusson 1998). Lo analizaremos más adelante en el capítulo.

La oxidación del NADH por el oxígeno, a través de la cadena de transporte electrónico, libera suficiente energía libre (220 kJ mol^{-1} ó 52 kcal mol^{-1}) como para dirigir la síntesis de ATP. Podemos pues formular una visión más completa de la respiración con relación a su papel en el metabolismo energético celular acoplando las siguientes reacciones:

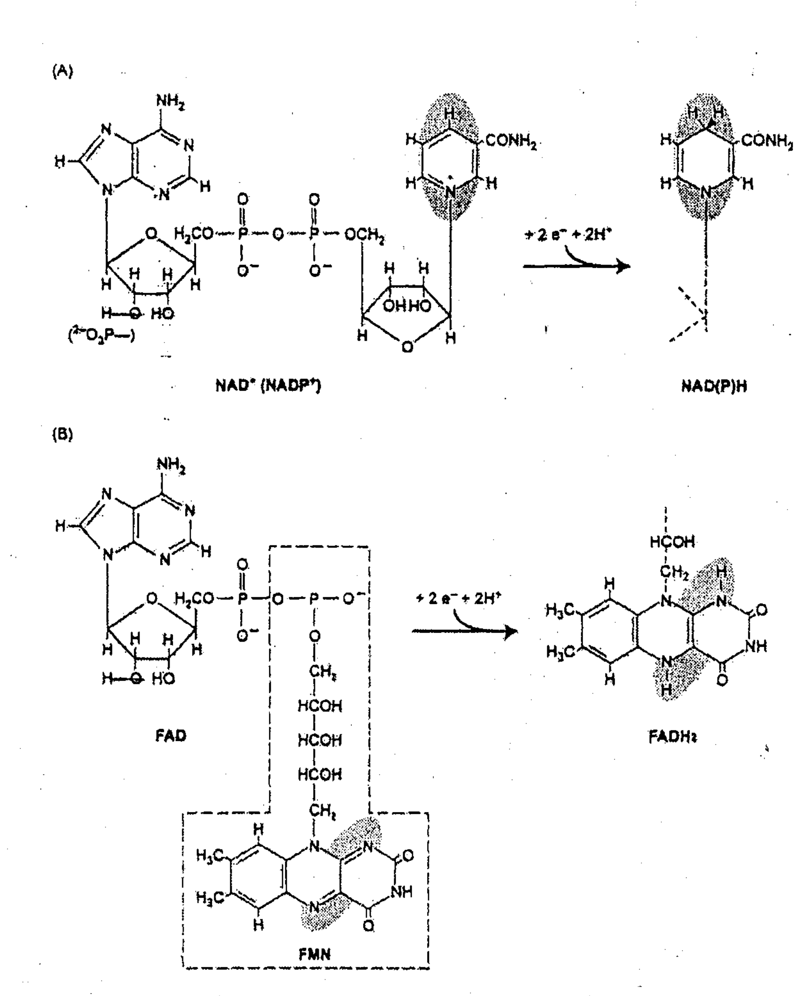


Figura 11.2 Estructuras y reacciones de los principales cofactores transportadores de electrones implicados en la bioenergética respiratoria. (A) Reducción de $NAD(P)^+$ a NAD(P)H; (B) Reducción de FAD a $FADH_2$. El FMN es idéntico a la parte flavina del FAD y se muestra en el recuadro sombreado. Las áreas azules muestran las partes de las moléculas implicadas en la reacción redox. (Véase el esquema en color en el CD.)

$$C_{12}H_{22}O_6 + 12\ O_2 \rightarrow 12\ CO_2 + 11\ H_2O$$
$$60\ ADP + 60\ P_i \rightarrow 60\ ATP + 60\ H_2O$$

Es evidente que no todo el carbono que entra en la ruta respiratoria se convierte en CO_2. Muchos intermediarios respiratorios son puntos de inicio de rutas que asi-

milan nitrógeno a partir de la forma inorgánica, rutas que sintetizan nucleótidos y lípidos y muchos otros compuestos (véase la figura 11.13).

LA GLICÓLISIS: UN PROCESO DEL CITOSOL Y LOS PLASTOS

En las primeras etapas de la glicólisis (de las palabras griegas *glykos*, «azúcar» y *lysis*, «ruptura»), los carbohidratos son convertidos en hexosas fosfato, que son a su vez convertidas en dos triosas fosfato. En una fase posterior de conservación de la energía, las triosas fosfato son oxidadas y reorganizadas para producir dos moléculas de piruvato, un ácido orgánico. Además de suministrar el sustrato para el ciclo del ácido cítrico, la glicólisis produce una pequeña cantidad de energía química en forma de ATP y NADH.

Cuando no hay oxígeno molecular disponible, por ejemplo, en las raíces vegetales de suelos encharcados, la glicólisis puede ser la principal fuente de energía de las células. Para realizar esta función, las **rutas de fermentación**, localizadas en el citosol, reducen el piruvato para reciclar el NADH producido por la glicólisis. En esta sección describiremos las rutas glicolítica y fermentativa, destacando las características especiales en las células vegetales. Terminaremos este análisis con la ruta de las pentosas fosfato.

La glicólisis convierte los carbohidratos en piruvato y produce NADH y ATP

La glicólisis tiene lugar en todos los organismos vivos (procariotas y eucariotas). Las principales reacciones asociadas a las rutas clásicas glicolítica y fermentativa en plantas son idénticas a las de las células animales (Figura 11.3). Sin embargo, la glicólisis vegetal tiene características reguladoras únicas, así como una ruta glicolítica parcial en plastos y rutas enzimáticas alternativas para varias etapas citosólicas. En animales el sustrato es la glucosa y el producto final el piruvato. Como la sacarosa es el principal azúcar transportado en la mayoría de las plantas y, por tanto, es la principal forma de carbono importada a la mayoría de los tejidos no fotosintéticos, puede considerarse que la sacarosa (y no la glucosa) es el verdadero azúcar sustrato de la respiración vegetal. Entre los productos finales de la glicólisis vegetal hay otro ácido orgánico, el malato.

En las primeras etapas de la glicólisis, la sacarosa se hidroliza en dos monosacáridos, glucosa y fructosa, que rápidamente entran en la ruta glicolítica. Se conocen dos rutas para la degradación de la sacarosa en plantas, participando las dos en la descarga de sacarosa desde el floema (capítulo 10).

En la mayoría de los tejidos vegetales, la sacarosa sintasa, que se encuentra en el citosol, se utiliza para degradar la sacarosa, combinando la sacarosa con UDP para producir fructosa y UDP-glucosa. La UDP-glucosa difosforilasa convierte la UDP-glucosa y difosfato (PP_i) en UTP y glucosa-6-fosfato (véase la figura 11.3). En algunos tejidos, la invertasa presente en la pared celular, la vacuola o el citosol, hidroliza la sacarosa en sus dos componentes (glucosa y fructosa). Las hexosas son entonces fosforiladas en una reacción que utiliza ATP. Mientras la reacción de la sacarosa sintasa está cercana al equilibrio, la reacción de la invertasa libera suficiente cantidad de energía como para ser prácticamente irreversible.

Los plastos, como los cloroplastos o los amiloplastos (véase el capítulo 1), pueden también aportar sustratos a la glicólisis. El almidón es sintetizado y catabolizado sólo en los plastos (véase el capítulo 8) y el carbono obtenido de la degradación del almidón entra en la ruta glicolítica en el citosol principalmente como hexosa fosfato (que es transportada al exterior del amiloplasto) o triosa fosfato (que es transportada al exterior de los cloroplastos). Los productos fotosintéticos pueden entrar directamente en la glicólisis como triosas fosfato (Hoefnagel y col. 1998).

Los plastos convierten el almidón en triosas fosfato utilizando un conjunto de isozimas glicolíticos que convierten las hexosas fosfato en triosas fosfato. Todos los enzimas que se muestran en la figura 11.3 se han encontrado en los niveles adecuados como para mantener las tasas respiratorias observadas en tejidos vegetales intactos.

En la fase inicial de la glicólisis, cada unidad de hexosa se fosforila dos veces, se produce su ruptura y se generan dos moléculas de triosa fosfato. Esta serie de reacciones consume de dos a cuatro moléculas de ATP por unidad de sacarosa, en función de si la sacarosa es hidrolizada por la sacarosa sintasa o por la invertasa. Estas reacciones incluyen dos o tres reacciones prácticamente irreversibles catalizadas por la hexoquinasa y la fosfofructoquinasa (véase la figura 11.3). La reacción de la fosfofructoquinasa actúa como uno de los puntos de control de la glicólisis tanto en plantas como en animales.

La fase de conservación de la energía. Las reacciones analizadas anteriormente transfieren el carbono desde varios sustratos a la triosa fosfato. Una vez formado el gliceraldehído-3-fosfato, la ruta glicolítica puede empezar a obtener energía útil en la fase de conservación de la energía. El enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa cataliza la oxidación del aldehído a ácido carboxílico, reduciendo NAD^+ a NADH. Esta reacción libera suficiente energía libre como para permitir la fosforilación (utilizando fosfato inorgánico) del gliceraldehído-3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato. El ácido carboxílico fosforilado en el carbono 1 del 1,3-bisfosfoglicerato (Figura 11.3) tiene una gran energía libre de hidrólisis ($-49,3$ kJ mol^{-1} ó $-11,8$ kcal mol^{-1}). Esto convierte al 1,3-bisfosfoglicerato en un dador potente de grupos fosfato.

En la etapa siguiente de la glicólisis, catalizada por la fosfogliceratoquinasa, el fosfato del carbono 1 es transferido a una molécula de ADP para dar ATP y 3-fosfo-

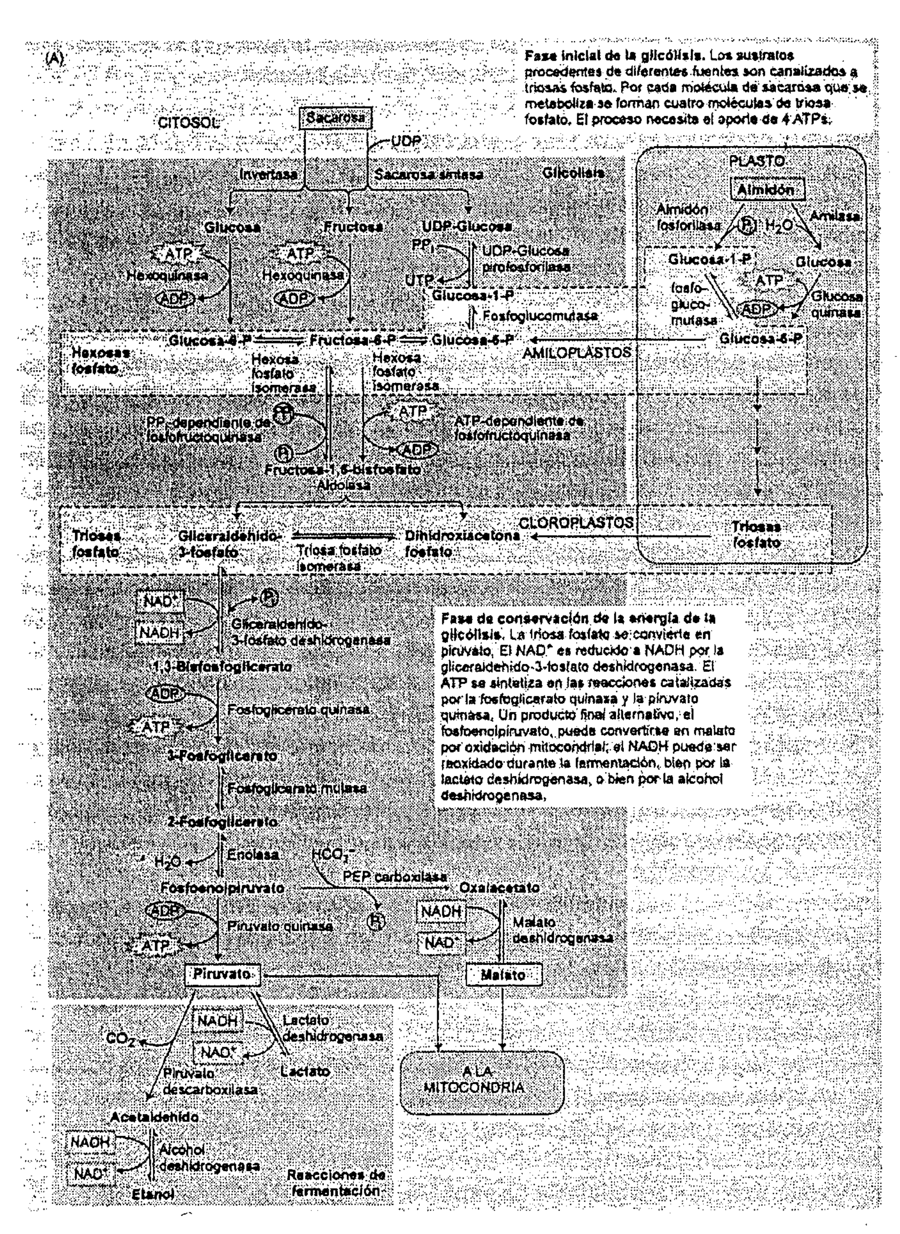


Figura 11.3 A Las reacciones de la glicólisis vegetal y la fermentación. (A) En la ruta principal, la sacarosa es oxidada a piruvato. Las flechas dobles indican reacciones reversibles; las flechas simples indican reacciones prácticamente irreversibles. (B) Estructuras de los intermediarios. P, fosfato; P_2, bisfosfato.

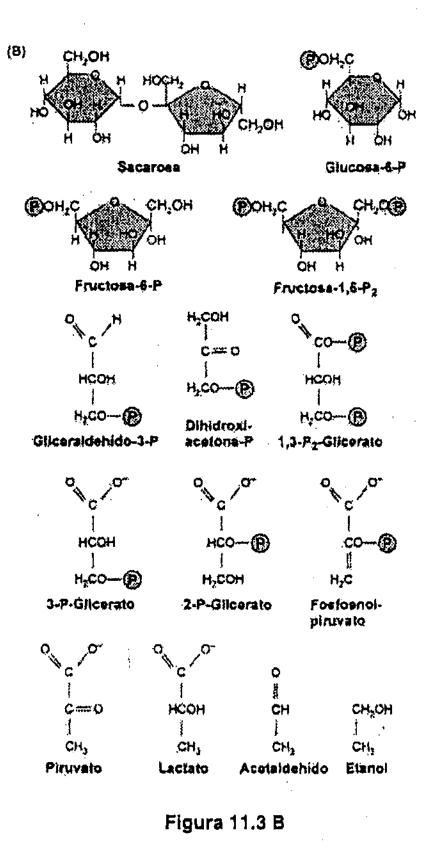


Figura 11.3 B

glicerato. Por cada sacarosa que entra en la ruta se generan cuatro moléculas de ATP; una por cada molécula de 1,3-bisfosfoglicerato.

Este tipo de síntesis de ATP, conocida tradicionalmente como **fosforilación a nivel de sustrato**, implica la transferencia directa de un grupo fosfato desde una molécula de sustrato al ADP para formar ATP. Como veremos, la reacción de fosforilación a nivel de sustrato tiene un mecanismo diferente del de la síntesis de ATP por la ATP sintasa, enzima implicado en la fosforilación oxidativa en la mitocondria (que se describirá más adelante en este capítulo) o de la fotofosforilación en los cloroplastos (véase el capítulo 7).

En la siguiente reacción, el fosfato del 3-fosfoglicerato es transferido al carbono 2 y se elimina una molécula de agua para generar el fosfoenolpiruvato (PEP). El grupo fosfato del PEP tiene una energía libre de hidrólisis alta (-61,9 kJ mol^{-1} ó -14,8 kcal mol^{-1}), por lo que el PEP es un dador de fosfato extremadamente bueno para la formación de ATP. Utilizando PEP como sustrato, el enzima piruvato quinasa cataliza una segunda fosforilzación a nivel de sustrato para dar ATP y piruvato. Este paso final, que es el tercer paso irreversible de la glicólisis, produce cuatro moléculas de ATP adicionales por cada molécula de sacarosa que entra en la ruta.

Las plantas tienen reacciones glicolíticas alternativas

La secuencia de reacciones que conduce a la formación de piruvato a partir de glucosa ocurre en todos los organismos que sufren glicólisis. Además, los organismos pueden utilizar esta ruta operando en sentido opuesto para sintetizar azúcares a partir de ácidos orgánicos. Este proceso se denomina **gluconeogénesis**.

La gluconeogénesis no es común en las plantas, pero se encuentra en algunas semillas tales como judía y girasol, que necesitan almacenar una gran cantidad de car-

bono en forma de aceite (triacilglicéridos). Después de que la semilla germina, parte de ese aceite es convertido, por gluconeogénesis, en sacarosa y se utiliza para mantener el crecimiento de la plántula. En la fase inicial de la glicólisis, la gluconeogénesis se solapa con la ruta de síntesis de sacarosa, desde la triosa fosfato fotosintética, que es típica de las plantas, como se describió en el capítulo 8.

Como la reacción glicolítica catalizada por la fosfofructoquinasa dependiente de ATP es irreversible (véase la figura 11.3), es necesario un enzima adicional que convierta la fructosa-1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato y P_i durante la gluconeogénesis. Ese enzima es la fructosa-1,6-bisfosfatasa. La fosfofructoquinasa dependiente de ATP y la fructosa bisfosfatasa representan el principal control del flujo de carbono a través de las rutas glicolítica y gluconeogénica tanto en animales como en plantas superiores, así como en la síntesis de sacarosa en plantas (véase el capítulo 8).

En plantas, la interconversión de fructosa-6-fosfato y fructosa-1,6-bisfosfato es más compleja debido a la presencia de un enzima adicional (citosólico), la fosfofructoquinasa dependiente de PP_i (difosfato:fructosa-6-fosfato-1-fosfotransferasa), que cataliza la siguiente reacción reversible (véase la figura 11.3):

$$\text{Fructosa-6-P} + PP_i \leftrightarrow \text{Fructosa-1,6-}P_2 + P_i$$

donde P representa el fosfato y P_2 el bisfosfato. La fosfofructoquinasa dependiente de PP_i se encuentra en el citosol de la mayoría de los tejidos vegetales en niveles que son considerablemente más altos que los de la fosfofructoquinasa dependiente de ATP (Kruger 1997). La eliminación de la fosfofructoquinasa dependiente de PP_i en patatas transgénicas ha mostrado que contribuye al flujo glicolítico, pero que no es esencial para la superviviencia de la planta, lo que indica que hay otros enzimas que pueden asumir su función.

La reacción catalizada por la fosfofructoquinasa dependiente de PP_i es reversible, pero es poco probable que funcione en la síntesis de sacarosa (Dennos y Blakely 2000). Al igual que la fosfofructoquinasa dependiente de ATP y la fructosa bisfosfatasa, este enzima parece estar regulado por fluctuaciones en el metabolismo celular (que se analizarán más adelante en este capítulo) lo que sugiere que en ciertas circunstancias la ruta glicolítica difiere de unos organismos a otros.

Al final de la secuencia glicolítica, las plantas tienen rutas alternativas para metabolizar el PEP. En una ruta, el PEP es carboxilado por el enzima citosólico PEP carboxilasa para formar el ácido orgánico oxalacetato (OAA). El OAA es después reducido a malato por la acción de la malato deshidrogenasa, que utiliza NADH como fuente de electrones, y tiene una función similar a la de las deshidrogenasas durante la fermentación (véase la figura 11.3). El malato resultante puede ser almacenado para ser exportado a la vacuola o ser transportado a la mitocondria, donde puede entrar en el ciclo del ácido cítrico. Así, la acción de la piruvato quinasa y de la PEP carboxilasa

puede producir ácidos orgánicos alternativos, piruvato o malato, para la respiración mitocondrial, aunque el piruvato predomina en la mayoría de los tejidos.

La fermentación permite la regeneración del NAD^+ necesario para la glicólisis, en ausencia de oxígeno

El ciclo del ácido cítrico y la fosforilación no pueden funcionar en ausencia de oxígeno. La glicólisis no puede continuar porque el aporte de NAD^+ de la célula es limitado y, una vez que todo el NAD^+ pasa al estado reducido (NADH), la reacción catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa no puede tener lugar. Para solucionar este problema, las plantas y otros organismos pueden metabolizar el piruvato realizando una o más formas de **metabolismo fermentativo** (véase la figura 11.3).

En la fermentación alcohólica (común en plantas, pero mejor conocida en levaduras), los dos enzimas piruvato descarboxilasa y alcohol deshidrogenasa actúan sobre el piruvato para producir, en último término, etanol y CO_2, y oxidar el NADH en el proceso. En la fermentación del ácido láctico (común en músculos de animales, pero también descrita en plantas), el enzima lactato deshidrogenasa utiliza NADH para reducir el piruvato a lactato, y regenerar así el NAD^+.

En ciertas circunstancias, los tejidos vegetales pueden estar sometidos a bajas concentraciones de oxígeno ambiental (hipoxia) o incluso nulas (anoxia), que los obligan a llevar a cabo el metabolismo fermentativo. El ejemplo más conocido ocurre en suelos inundados o saturados en los que la difusión del oxígeno a través de las raíces está tan reducida como para provocar que los tejidos de las raíces sean hipóxicos.

En maíz, la respuesta inicial a una baja concentración de oxígeno es la fermentación del ácido láctico, aunque si la hipoxia continua se realiza la fermentación alcohólica. Se piensa que el etanol es un producto final de fermentación menos dañino que el lactato, ya que el etanol difunde hacia el exterior de la célula, mientras el lactato se acumula y promueve la acidificación del citosol. Existen numerosos ejemplos de plantas que funcionan en condiciones anaeróbicas y que realizan algún tipo de fermentación.

En la fermentación no se libera toda la energía libre disponible en cada molécula de azúcar

Para finalizar, realizaremos algunas consideraciones sobre la eficiencia de la fermentación. La *eficiencia* se define como la energía conservada como ATP respecto a la energía potencialmente disponible en una molécula de sacarosa. La variación de energía libre estándar ($\Delta G^{\circ\prime}$) para la oxidación completa de una molécula de sacarosa es $-5\ 760$ kJ mol^{-1} ($-1\ 380$ kcal mol^{-1}). El valor de $\Delta G^{\circ\prime}$ para la síntesis de

ATP es de 32 kJ mol^{-1} (7,7 kcal mol^{-1}). Sin embargo, en las células vegetales no suelen existir las condiciones estándar, por lo que la síntesis de ATP requiere un aporte de energía libre de unos 50 kJ mol^{-1} (12 kcal mol^{-1}). (Para un análisis de la energía libre, véase el capítulo 2 en la página web.)

Cada molécula de sacarosa que es convertida en etanol (o lactato) permite la síntesis neta de cuatro moléculas de ATP, por lo que la eficiencia de la fermentación aeróbica es sólo de un 4 %. La mayor parte de la energía disponible en la sacarosa permanece en el producto reducido de la fermentación: lactato o etanol. Durante la respiración aeróbica, el piruvato producido por la glicólisis es transportado a la mitocondria para ser oxidado, lo que hace la conversión de energía libre mucho más eficiente.

Debido a la baja eficiencia de la conservación de la energía en la fermentación, es necesario aumentar la velocidad de la glicólisis para mantener la producción de ATP necesaria para la supervivencia de la célula. Esto se conoce como *el efecto Pasteur* en honor al microbiólogo francés Louis Pasteur que fue el primero que lo descubrió, al observar las levaduras que cambiaban de una respiración aeróbica a una fermentación alcohólica anaeróbica. Las altas tasas de glicólisis resultan de los cambios en los niveles de metabolitos glicolíticos, así como del aumento de la expresión de los genes que codifican los enzimas de la glicólisis y la fermentación (Sachs y col. 1996).

La glicólisis vegetal está controlada por sus productos

In vivo, la glicólisis parece estar regulada a nivel de la fosforilación de la fructosa-6-fosfato y el recambio de PEP (véase el **ensayo web 11.1**). A diferencia de lo que ocurre en los animales, el AMP y el ATP no son los principales reguladores de la fosfofructoquinasa y la piruvato quinasa. La concentración citosólica de PEP, que es un potente inhibidor de la fosfofructoquinasa dependiente de ATP, es un regulador muy importante de la glicólisis.

El efecto inhibidor del PEP sobre la fosfofructoquinasa se reduce notablemente por el fosfato inorgánico, haciendo que la relación citosólica entre el PEP y el P_i sea un factor crítico en el control de la actividad glicolítica vegetal. La piruvato quinasa y la PEP carboxilasa (véase la figura 11.3) son sensibles a la inhibición por retroalimentación por los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y sus derivados, como malato, citrato, 2-oxoglutarato y glutamato.

En plantas, por tanto, el control de la glicólisis se produce por *estimulación por sustrato e inhibición por producto* (*bottom-up*) (véase la figura 11.12) con un primer nivel de regulación en el metabolismo del PEP por la piruvato quinasa y la PEP carboxilasa, y una segunda regulación ejercida por el PEP en la conversión de la fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato (véase la figura 11.3). En animales, el principal control se produce en la fosfofructoquinasa y el secundario en la piruvato quinasa.

Una ventaja del control por estimulación por sustrato e inhibición por producto de la glicólisis es que permite a las plantas controlar el flujo glicolítico neto a piruvato, independientemente de los procesos relacionados, como el ciclo de Calvin y la interconversión entre sacarosa y almidón (Plaxton 1996). Otra ventaja de este mecanismo de control es que la glicólisis se puede ajustar a la demanda de precursores biosintéticos.

La presencia de dos enzimas que metabolizan PEP en las células vegetales (piruvato quinasa y PEP carboxilasa) tiene consecuencias en el control de la glicólisis que no están claras. Aunque los dos enzimas se inhiben por metabolitos similares, la PEP carboxilasa puede llevar a cabo, en ciertas condiciones, una reacción «de rodeo» de la piruvato quinasa. El malato resultante puede entrar en el ciclo del ácido cítrico de la mitocondria. Por tanto, la regulación por estimulación por sustrato e inhibición por producto permite una alta flexibilidad en el control de la glicólisis vegetal.

Los experimentos que apoyan las múltiples rutas del metabolismo de PEP están basados en estudios realizados con plantas transgénicas de tabaco con menos de un 5 % del nivel normal de piruvato quinasa en el citosol de las hojas (Plaxton 1996). En estas plantas, las tasa de respiración y fotosíntesis en las hojas no difiere respecto a la de las plantas control que presentan niveles normales de piruvato quinasa. Sin embargo, la reducción del crecimiento radical de las plantas transgénicas indica que la reacción de la piruvato quinasa no podría evitarse sin mostrar efectos perjudiciales para la planta.

La regulación de la conversión de la fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato es también compleja. La fructosa-2,6-bisfosfato, otra hexosa bisfosfato, está presente en el citosol en niveles variables (véase el capítulo 8). Ésta inhibe de forma importante la actividad citosólica de la fructosa-1,6-bisfosfatasa, pero estimula la actividad de la fosfofructoquinasa dependiente de PP_i. Estas observaciones han sugerido que la fructosa-2,6-bisfosfato tiene una función importante en la distribución del flujo entre las rutas dependientes de ATP y de PP_i del metabolismo de la fructosa fosfato, en el punto crucial entre la síntesis de sacarosa y la glicólisis.

Para comprender de forma precisa los niveles de la regulación de la glicólisis es necesario estudiar los cambios temporales en los niveles de metabolitos (Givan 1999). Actualmente no se dispone de métodos que permitan una extracción rápida y el análisis simultáneo de numerosos metabolitos. Por espectroscopia de masas se consigue una aproximación fiable del llamado perfil *metabólico* (véase el **ensayo web 11.2**).

La ruta de las pentosas fosfato produce NADPH e intermediarios biosintéticos

La ruta glicolítica no es la única ruta disponible para la oxidación de azúcares en las células vegetales. La **ruta oxidativa de las pentosas fosfato** también puede cumplir

esta tarea (Figura 11.4), ya que ambas tienen metabolitos comunes. Las reacciones son realizadas por enzimas solubles presentes en el citosol y en los plastos. Generalmente, la ruta de los plastos predomina sobre la ruta citosólica (Dennos y col. 1997).

Las primeras dos reacciones de esta serie representan los acontecimientos oxidativos de la ruta, y convierten un azúcar de seis carbonos, la glucosa-6-fosfato, en un azúcar de cinco carbonos, la ribulosa-5-fosfato, con la consiguiente pérdida de CO_2 y la generación de dos moléculas de NADPH (no NADH). Las restantes reacciones de la ruta son la conversión de la ribulosa-5-fosfato en los intermediarios glicolíticos gliceraldehído-3-fosfato y fructosa-6-fosfato. Como la glucosa-6-fosfato puede ser regenerada a partir del gliceraldehído-3-fosfato y de la fructosa-6-fosfato por los enzimas glicolíticos, después de seis ciclos se puede escribir la reacción de la siguiente forma:

$$6 \text{ glucosa-6-P} + 12 \text{ NADP}^+ + 7 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow$$
$$5 \text{ glucosa-6-P} + 6 \text{ CO}_2 + \text{P}_i + 12 \text{ NADPH} + 12 \text{ H}^+$$

El resultado neto es la completa oxidación de una molécula de glucosa-6-fosfato a CO_2 con la síntesis de 12 moléculas de NADPH.

Los estudios realizados de liberación de $^{14}CO_2$ a partir de glucosa marcada isotópicamente indican que la glicólisis es la ruta dominante, ya que contribuye en un 80-95 % al flujo total de carbono de la mayoría de los tejidos vegetales. Sin embargo, la ruta de las pentosas fosfato también contribuye, y los estudios de desarrollo han indicado que su contribución aumenta a medida que las células vegetales pasan desde un estado meristemático a uno más diferenciado (Ap Rees 1980). La ruta oxidativa de las pentosas fosfato tiene diversas funciones en el metabolismo vegetal:

- El producto de las dos etapas oxidativas es NADPH, y se cree que este NADPH dirige las etapas reductoras asociadas con varias reacciones biosintéticas que ocurren en el citosol. En los plastos no verdes, como los amiloplastos y los cloroplastos funcionando en oscuridad, la ruta puede aportar NADPH para reacciones biosintéticas como la biosíntesis de lípidos y la asimilación de nitrógeno.
- Como las mitocondrias vegetales son capaces de oxidar NADH citosólico a través de una NADH deshidrogenasa localizada en el citosol de la superficie externa de la membrana interna mitocondrial, parte del poder reductor generado en la ruta de las pentosas fosfato puede contribuir al metabolismo energético celular; es decir, los electrones del NADPH van a parar a la reducción de oxígeno y a la generación de ATP.
- La ruta sólo produce ribosa-5-fosfato, un precursor de la ribosa y la desoxirribosa, necesarias para la síntesis de RNA y DNA, respectivamente.

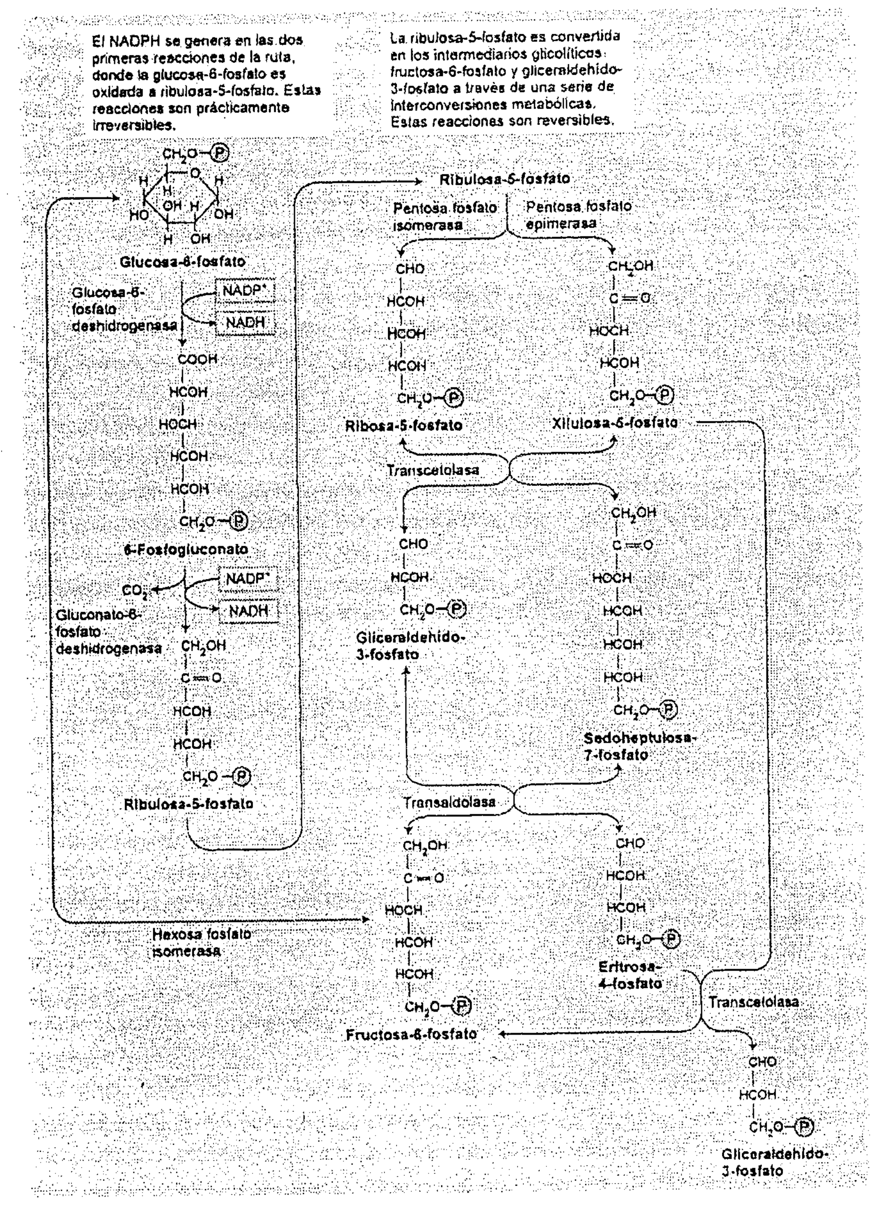


Figura 11.4 Reacciones de la ruta oxidativa de las pentosas fosfato en plantas superiores. P, fosfato.

- Otro intermediario de esta ruta es un azúcar de 4 carbonos, la eritrosa-4-fosfato, que se combina con el PEP en la reacción inicial para formar compuestos fenólicos, entre los que se incluyen los aminoácidos aromáticos y los precursores de la lignina, flavonoides y fitoalexinas (véase el capítulo 13).
- Durante los primeros estadios de reverdecimiento, antes de que la hoja sea completamente autotrófica, se cree que la ruta oxidativa de las pentosas fosfato está implicada en la generación de intermediarios del ciclo de Calvin.

Control de la ruta oxidativa. La ruta de las pentosas fosfato está controlada por la reacción inicial de la ruta, catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, cuya actividad está fuertemente inhibida a medida que aumenta la relación de NADPH respecto a $NADP^+$.

No obstante, es probable que, en presencia de luz, se produzca poca actividad de la ruta oxidativa debido a que los productos finales de la ruta, la fructosa-6-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato están siendo sintetizados por el ciclo de Calvin. Así, la acción de masa dirigiría las interconversiones monooxidativas de la ruta en la dirección de síntesis de la pentosa. Es más, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es inhibida en presencia de luz por una alta relación de NADPH respecto a $NADP^+$ en los cloroplastos, así como por la inactivación reductora que implica al sistema ferredoxina-tiorredoxina (véase el capítulo 8).

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO: UN PROCESO DE LA MATRIZ MITOCONDRIAL

Durante el siglo XIX, los biólogos descubrieron que, en ausencia de aire, las células producen etanol o ácido láctico, mientras que en presencia de aire consumen O_2 y producen CO_2 y H_2O. En 1937, el británico nacido en Alemania Hans A. Krebs publicó el descubrimiento del **ciclo del ácido cítrico**, también llamado *ciclo de los ácidos tricarboxílicos* o *ciclo de Krebs*. El descubrimiento del ciclo del ácido cítrico no sólo explicaba cómo el piruvato se descompone en CO_2 y H_2O, sino que destacaba el concepto clave de ciclos en las rutas metabólicas. Por este descubrimiento, Hans Krebs recibió el Premio Nobel en 1953.

Como el ciclo del ácido cítrico se localiza en la matriz mitocondrial, empezaremos con una descripción general de la estructura y función de la mitocondria, conocimientos obtenidos a partir de los experimentos con mitocondrias aisladas (véase el **tema web 11.1**). Revisaremos las etapas del ciclo del ácido cítrico, remarcando las características específicas para plantas. Por último, consideraremos cómo afectan a la función respiratoria las propiedades específicas de los vegetales.

Las mitocondrias son orgánulos semiautónomos

La transformación de sacarosa en piruvato libera menos del 25 % de la energía total de la sacarosa; la energía restante se almacena en dos moléculas de piruvato. Las dos etapas siguientes de la respiración (el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa) tienen lugar en la **mitocondria**, un orgánulo delimitado por una doble membrana.

En micrografías electrónicas, las mitocondrias vegetales tienen forma generalmente esférica o de vaina (Figura 11.5), con un diámetro de 0,5 a 1 µm y más de 3 µm de longitud (Douce 1985). Con algunas excepciones, las células vegetales tienen un número sustancialmente reducido de mitocondrias respecto a las que se encuentran en una célula animal típica. El número de mitocondrias por célula vegetal varía y es directamente proporcional a la actividad metabólica del tejido, lo que demuestra el papel de la mitocondria en el metabolismo energético. Las células guarda, por ejemplo, suelen tener escasas mitocondrias.

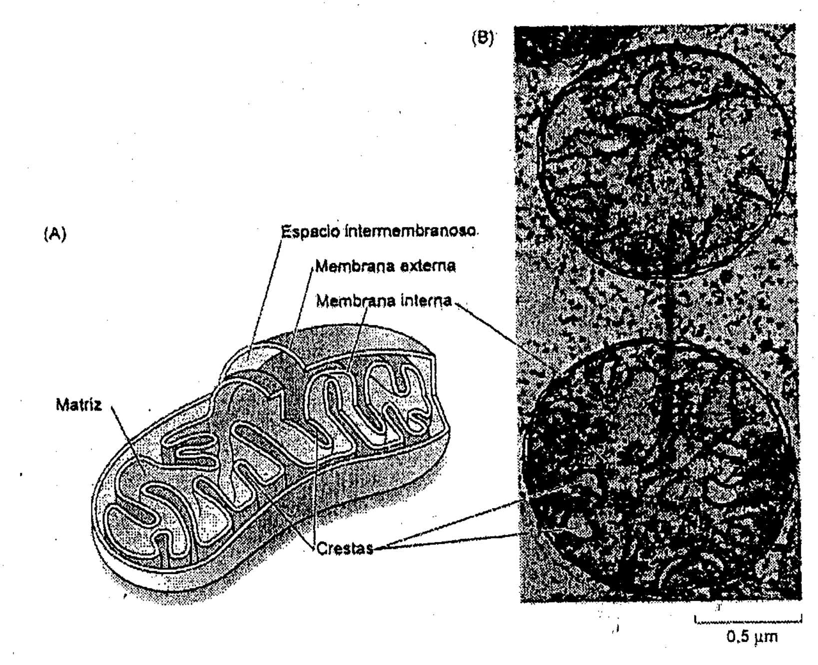


Figura 11.5 Estructura de una mitocondria vegetal. (A) Representación tridimensional de una mitocondria mostrando las invaginaciones de la membrana interna que dan lugar a las crestas y la localización de la matriz y el espacio intermembranoso (véase también la figura 11.10). (B) Micrografía electrónica de una mitocondria de una célula del mesofilo de *Vicia faba*. (Foto de Gunning y Steer 1996.)

Las características de la estructura interna de las mitocondrias vegetales son similares a las de las mitocondrias de tejidos no vegetales (véase la figura 11.5). Las mitocondrias vegetales tienen dos membranas: una **membrana externa** lisa que rodea completamente a una **membrana interna** con numerosas invaginaciones. Las invaginaciones de la membrana interna se conocen como **crestas**. Debido a la gran área superficial, la membrana interna puede contener más del 50 % de las proteínas totales de la mitocondria. La fase acuosa contenida en la membrana interna se conoce como **matriz** mitocondrial y la región entre las dos membranas mitocondriales se conoce como **espacio intermembranoso**.

Las mitocondrias intactas son osmóticamente activas, es decir, cuando se colocan en un medio hipoosmótico, incorporan agua y se hinchan. La mayoría de los iones inorgánicos y moléculas orgánicas cargadas no son capaces de difundir libremente al espacio de la matriz. La membrana interna es la barrera osmótica; la membrana externa es permeable a solutos de masa molecular de hasta 10 000 Da (como es el caso de la mayoría de los metabolitos e iones celulares, pero no de las proteínas). La fracción lipídica de ambas membranas está formada principalmente por fosfolípidos, el 80 % de los cuales son fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina.

Como los cloroplastos, las mitocondrias son orgánulos semiautónomos, ya que contienen ribosomas, RNA y DNA, que codifican un número limitado de proteínas mitocondriales. Por ello, las mitocondrias vegetales son capaces de llevar a cabo algunas de las etapas de la síntesis de proteínas y transmitir su información genética. Las mitocondrias se reproducen por fisión mediante la división de las mitocondrias preexistentes y no a través de la biogénesis de novo del orgánulo.

El piruvato entra en la mitocondria y es oxidado por el ciclo del ácido cítrico

Como señalamos antes, el ciclo del ácido cítrico también se conoce como ciclo de los ácidos tricarboxílicos debido a la importancia de éstos, como el ácido cítrico (citrato) y el ácido isocítrico (isocitrato), como intermediarios tempranos (Figura 11.6). Este ciclo constituye el segundo paso de la respiración y tiene lugar en la matriz mitocondrial. Este proceso requiere que el piruvato generado en el citosol durante la glicólisis sea transportado a través de la membrana interna mitocondrial impermeable, mediante una proteína transportadora específica (como describiremos brevemente más adelante en este capítulo).

Una vez en el interior de la matriz mitocondrial, el piruvato es descarboxilado por la piruvato deshidrogenasa en una reacción de oxidación. Los productos son NADH (a partir de NAD^+), CO_2 y ácido acético, en forma de acetil CoA, en el que un enlace tioéster une el ácido acético a un cofactor que contiene azufre, el coenzima A (CoA)

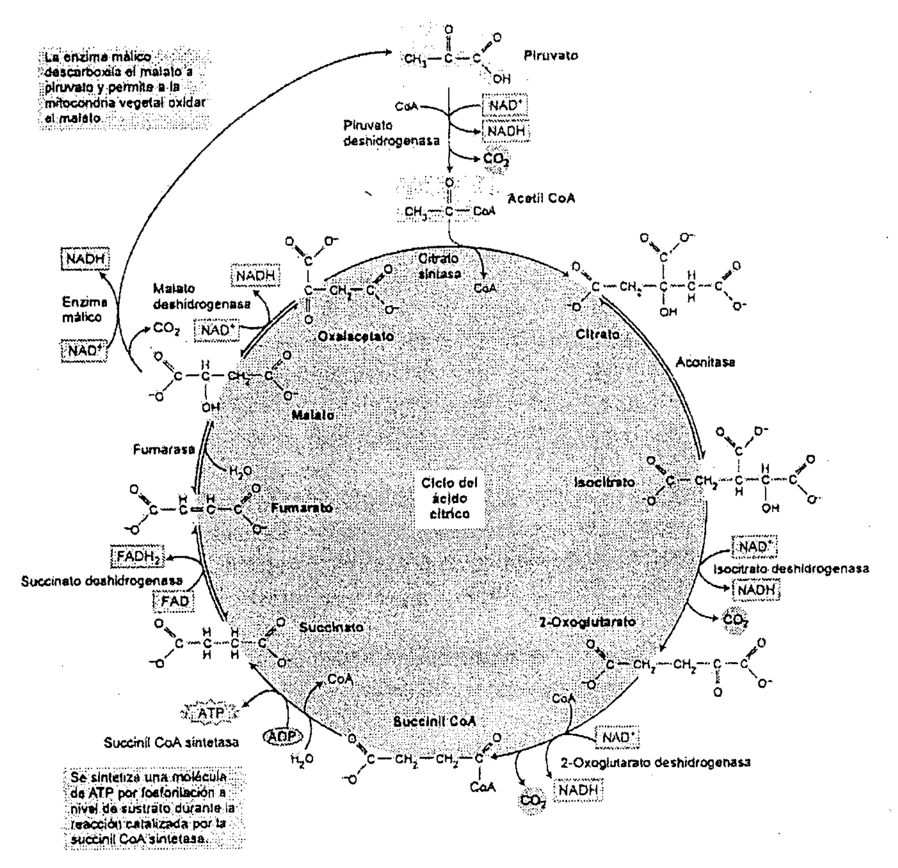


Figura 11.6 Reacciones y enzimas del ciclo del ácido cítrico. El piruvato es oxidado completamente a tres moléculas de CO_2. Los electrones generados durante estas oxidaciones se utilizan para reducir cuatro moléculas de NAD^+ a NADH y una molécula de FAD a $FADH_2$.

(véase la figura 11.6). La piruvato deshidrogenasa se encuentra como un complejo de varias actividades enzimáticas que catalizan la reacción en un proceso de tres etapas: descarboxilación, oxidación y conjugación a CoA.

En la siguiente reacción, la citrato sintasa combina el grupo acetil del acetil CoA con un ácido dicarboxílico de cuatro carbonos (el oxalacetato, OAA) para generar un ácido tricarboxílico de seis carbonos (el citrato). El citrato es entonces isomerizado a isocitrato por la aconitasa.

Las dos reacciones siguientes son descarboxilaciones oxidativas sucesivas, cada una de las cuales produce una molécula de NADH y libera una molécula de CO_2 y

una molécula de cuatro carbonos, el succinil CoA. En este momento, se han liberado tres moléculas de CO_2 por cada molécula de piruvato que ha entrado en la mitocondria, ó 12 de CO_2 por cada molécula de sacarosa oxidada.

Durante el resto del ciclo del ácido cítrico, el succinil CoA es convertido en OAA para permitir que la actividad del ciclo continúe. Inicialmente, la cantidad de energía libre disponible en el enlace tioéster del succinil CoA se conserva a través de la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i, por una fosforilación a nivel de sustrato catalizada por la succinil CoA sintetasa. (Recuérdese que la energía libre disponible en el enlace tioéster del acetil CoA es utilizada para formar un enlace carbono-carbono en la etapa catalizada por la citrato sintasa.) El succinato resultante es oxidado a fumarato por la succinato deshidrogenasa, que es el único enzima del ciclo del ácido cítrico que está asociado a la membrana y que participa en la cadena de transporte electrónico (que es el siguiente gran tema que analizaremos en este capítulo).

Los electrones y protones eliminados del succinato no van a parar al NAD^+, sino a otro cofactor implicado en las reacciones redox: el FAD (dinucleótido de flavina y adenina). El FAD se une covalentemente al sitio activo de la succinato deshidrogenasa y se produce una reducción reversible de 2 electrones para dar $FADH_2$ (véase la figura 11.2).

En las dos reacciones finales del ciclo del ácido cítrico, el fumarato es hidratado para producir malato, que es posteriormente oxidado por la malato deshidrogenasa para regenerar el OAA y producir otra molécula de NADH. El OAA producido es capaz de reaccionar con otra molécula de acetil CoA y continuar el ciclo.

La etapa de oxidación de una molécula de piruvato en la mitocondria produce tres moléculas de CO_2 y la mayor parte de la energía libre liberada en estas oxidaciones se almacena en la forma reducida de cuatro NADH y un $FADH_2$. Además, durante el ciclo del ácido cítrico se produce una molécula de ATP por fosforilación a nivel de sustrato.

Todos los enzimas asociados con el ciclo del ácido cítrico se han encontrado en mitocondrias vegetales. Algunos de ellos pueden estar asociados en complejos multienzimáticos, lo que facilitaría el movimiento de metabolitos entre los enzimas.

El ciclo del ácido cítrico de las plantas tiene características únicas

Las reacciones del ciclo del ácido cítrico que describimos en la figura 11.6 no son idénticas a las que tienen lugar en las mitocondrias animales. Por ejemplo, la etapa catalizada por la succinil CoA sintetasa produce ATP en plantas y GTP en animales.

Una característica del ciclo del ácido cítrico de las plantas (que está ausente en otros organismos) es la actividad del enzima NAD^+ málico, que se encuentra en la

matriz de todas las mitocondrias vegetales analizadas hasta la fecha. El enzima cataliza la descarboxilación oxidativa del malato:

$$\text{Malato} + NAD^+ \rightarrow \text{piruvato} + CO_2 + NADH$$

La presencia del enzima NAD^+ málico permite a la mitocondria vegetal realizar una ruta alternativa para el metabolismo del PEP derivado de la glicólisis. Como ya describimos, el malato puede sintetizarse a partir del PEP en el citosol a través de los enzimas PEP carboxilasa y malato deshidrogenasa (véase la figura 11.3). El malato es entonces transportado a la matriz mitocondrial donde el enzima NAD^+ málico lo oxida a piruvato. Esta reacción permite la oxidación completa de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico como el malato (Figura 11.7A) o el citrato (Figura 11.7B) (Oliver y McIntosh 1995).

Alternativamente, el malato producido por la vía de la PEP carboxilasa puede reemplazar a los intermediarios del ciclo del ácido cítrico utilizados en la biosíntesis. Las reacciones que permiten reemplazar los intermediarios en un ciclo metabólico se denominan *reacciones anapleróticas*. Por ejemplo, la exportación del 2-oxoglutarato para la asimilación del nitrógeno en el cloroplasto provocará una escasez de malato, necesario para la reacción de la citrato sintasa. Este malato puede ser reemplazado a través de la ruta de la PEP carboxilasa (Figura 11.7C).

Se ha constatado la presencia de una ruta alternativa para la oxidación del malato mediante la observación de la acumulación de niveles significativos de malato en la vacuola central de muchas plantas, además de las que experimentan metabolismo ácido de las crasuláceas (véase el capítulo 8).

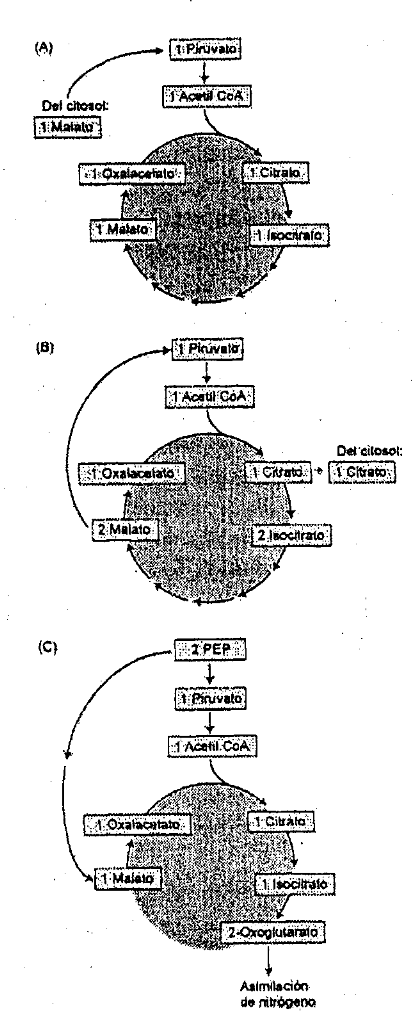


Figura 11.7 Los enzimas málico y PEP carboxilasa proporcionan a las plantas flexibilidad metabólica para el metabolismo del fosfoenolpiruvato. El enzima málico permite oxidar en la mitocondria vegetal tanto el malato (A) como el citrato (B) a CO_2 sin ser necesario el suministro de piruvato desde la glicólisis. La acción conjunta de la PEP carboxilasa y la piruvato quinasa pueden convertir el PEP glicolítico en 2-oxocetoglutarato, que es utilizado para la asimilación del nitrógeno (C).

EL TRANSPORTE ELECTRÓNICO Y LA SÍNTESIS DE ATP EN LA MEMBRANA INTERNA MITOCONDRIAL

El ATP es el transportador de energía utilizado por las células para dirigir los procesos vitales, y la energía química conservada durante el ciclo del ácido cítrico en forma de NADH y $FADH_2$ (equivalentes redox con electrones de alta energía) debe convertirse en ATP para poder ser utilizada para realizar un trabajo útil en la célula. El proceso dependiente de O_2, llamado **fosforilación oxidativa,** tiene lugar en la membrana mitocondrial interna.

En esta sección describiremos los procesos por los cuales el nivel de energía de los electrones se conserva en forma de un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna. Aunque es similar en todas las células aeróbicas, la cadena de transporte electrónico de plantas (y hongos) contiene muchas NADH deshidrogenasas y una oxidasa que no se encuentran presentes en las mitocondrias de mamíferos.

También examinaremos el enzima que utiliza la energía del gradiente de protones para sintetizar ATP, la F_0F_1 ATP sintasa. Después de examinar las distintas etapas de la síntesis de ATP, resumiremos las etapas de conservación de energía en cada estado, así como los mecanismos reguladores que coordinan los diferentes procesos.

La cadena de transporte electrónico canaliza un flujo de electrones desde el NADH hasta el O_2

Por cada molécula de sacarosa oxidada por las rutas de la glicólisis y el ciclo del ácido cítrico, se generan 4 moléculas de NADH en el citosol y 16 moléculas de NADH y 4 moléculas de $FADH_2$ (asociadas a la succinato deshidrogenasa) en la matriz mitocondrial. Estos compuestos reducidos deben ser reoxidados o el proceso respiratorio se detendría.

La cadena de transporte electrónico canaliza el flujo de electrones desde el NADH (y $FADH_2$) hasta el oxígeno, que es el último aceptor del proceso respiratorio. Para la oxidación de NADH, la transferencia global de dos electrones se representa de la siguiente forma:

$$NADH + H^+ + 1/2\ O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O$$

De los potenciales de reducción del par $NADH/NAD^+$ (–320 mV) y del par $H_2O/½\ O_2$ (+810 mV), se puede calcular la energía libre liberada durante el proceso global ($\Delta G^{0'} = -n\ F\ \Delta\varepsilon^{0'}$) que es de unos 220 kJ mol^{-1} (52 kcal mol^{-1}) por cada dos electrones (para un análisis detallado sobre la energía libre estándar, véase el capítulo 2 en la página web). Como el potencial de reducción del par succinato/fumarato es algo más alto (+30 mV), sólo se liberan 152 KJ mol^{-1} (36 kcal mol^{-1}) por cada dos electrones generados en la oxidación del succinato. El papel de la cadena de transporte electrónico es llevar a cabo la oxidación del NADH (y $FADH_2$) y, en el proceso, utiliza parte de la energía liberada para generar un gradiente de potencial electroquímico, $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, a través de la membrana mitocondrial interna.

La cadena de transporte electrónico de plantas superiores tiene los mismos transportadores de electrones que los encontrados en mitocondrias de otros organismos (Figura 11.8) (Siedow 1995; Siedow y Umbach 1995). Las proteínas de transporte de electrones individuales se organizan en cuatro complejos multiproteicos (identificados con los números romanos del I a IV), todos ellos localizados en la membrana mitocondrial interna:

Complejo I (NADH deshidrogenasa). Los electrones del NADH generados en la matriz mitocondrial durante el ciclo del ácido cítrico son oxidados por el complejo I (NADH deshidrogenasa). Los transportadores de electrones del complejo I incluyen

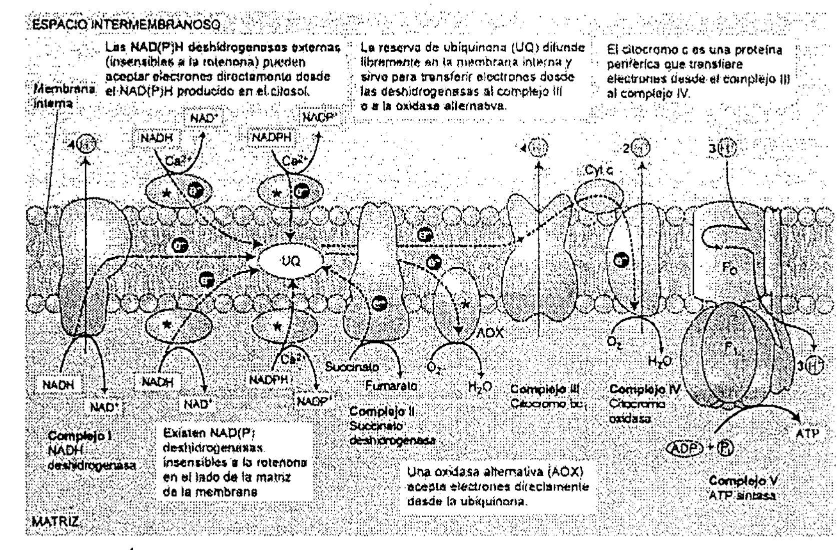


Figura 11.8 Organización de la cadena de transporte electrónico y síntesis de ATP en la membrana mitocondrial interna de las plantas. Además de los cinco complejos proteicos estándar que se encuentran en todas las demás mitocondrias, la cadena de transporte electrónico vegetal contiene cinco enzimas adicionales, marcados en verde y con un asterisco. Ninguno de estos enzimas adicionales bombea protones. La utilización de inhibidores específicos de los complejos, la rotenona para el complejo I, la antimicina para el complejo III, el cianuro para el complejo IV y el ácido salicilhidroxámico (SHAM) para la ruta alternativa, es una herramienta importante para investigar la cadena de transporte electrónico de mitocondrias vegetales. (Véase el esquema en color en el CD.)

un cofactor fuertemente unido (mononucleótido de flavina, [FMN], que químicamente es similar al FAD; véase la figura 11.2B) y varias proteínas ferrosulfuradas. El complejo I transfiere estos electrones a la ubiquinona. Por cada par de electrones que pasa a través de complejo, se bombean cuatro protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso.

La **ubiquinona** es una pequeña proteína transportadora de electrones y protones, que está localizada en la membrana mitocondrial interna. No está fuertemente asociada a otras proteínas de membrana y puede difundir por el centro hidrofóbico de la bicapa de la membrana.

Complejo II (succinato deshidrogenasa). La oxidación del succinato en el ciclo del ácido cítrico está catalizada por este complejo y los equivalentes reductores son transferidos, a través del $FADH_2$ y de un grupo de proteínas ferrosulfuradas, al conjunto de ubiquinonas. Este complejo no bombea protones.

Complejo III (complejo citocromo bc_1). Este complejo oxida la ubiquinona reducida (ubiquinol) y transfiere los electrones a través de un centro ferrosulfurado, dos citocromos tipo *b* (b_{565} y b_{560}) y un citocromo c_1 unido a la membrana, hasta el citocromo c. El complejo III bombea cuatro protones por cada par de electrones.

El **citocromo c** es una proteína débilmente asociada a la superficie exterior de la membrana y que actúa como un transportador móvil para transferir electrones entre los complejos III y IV.

Complejo IV (citocromo c-oxidasa). Este complejo contiene dos centros con átomos de cobre (Cu_A y Cu_B) y dos citocromos tipo a y a_3. El complejo IV es la oxidasa terminal que lleva los cuatro electrones para reducir el O_2 a dos moléculas de agua. Por cada par de electrones que pasa a través del complejo, se bombean dos protones (véase la figura 11.8).

Estructural y funcionalmente, la ubiquinona y el complejo citocromo bc_1 son muy similares a la plastoquinona y al complejo citocromo b_6f, respectivamente, de la cadena de transporte electrónico fotosintético (véase el capítulo 7).

Algunos enzimas transportadores de electrones son exclusivos de las mitocondrias vegetales

Además de los transportadores de electrones descritos, las mitocondrias vegetales contienen algunos componentes que no se encuentran en mitocondrias de mamíferos (Figura 11.8). Hay que destacar que ninguno de estos enzimas adicionales bombea protones y la conservación de la energía es, por tanto, menor que si no se usaran:

- Dos NAD(P)H deshidrogenasas, ambas dependientes de Ca^{2+}, ancladas a la superficie exterior de la membrana interna, de cara al espacio intermembranoso, que pueden oxidar el NADH y el NADPH citosólicos. Los electrones desde estas NAD(P)H deshidrogenasas, ND_{ex}(NADH) y ND_{ex}(NADPH), entran en la cadena de transporte electrónico a nivel del conjunto de ubiquinonas (véase el **tema web 11.2**) (Møller 2001).
- Las mitocondrias vegetales tienen dos rutas para la oxidación del NADH de la matriz. El flujo de electrones a través del complejo I descrito en la secuencia anterior es sensible a la inhibición por algunos compuestos, incluidos la rotenona y la piericidina. Además, las mitocondrias vegetales aisladas tienen una deshidrogenasa resistente a la rotenona, ND_{in}(NADH), para la oxidación de NADH derivado de los sustratos del ciclo del ácido cítrico. La función de esta ruta puede ser actuar como una alternativa que se pone en funcionamiento cuando el complejo I está demasiado cargado (Møller y Rasmusson 1998; Møller 2001), como ocurre en condiciones fotorrespiratorias (véase también el **tema web 11.2**).
- Una NADPH deshidrogenasa, ND_{in}(NADPH), se encuentra en la superficie de la matriz. Se conoce muy poco sobre este enzima.
- La mayoría de las plantas, pero no todas, tienen una ruta respiratoria «alternativa» para la reducción del oxígeno. Esta ruta implica la llamada oxidasa alternativa que, a diferencia de la citocromo *c*-oxidasa, es insensible a la inhibición por cianuro, azida o monóxido de carbono (véase el **tema web 11.3**).

La naturaleza y el significado fisiológico de esta ruta resistente al cianuro se considerará en profundidad más adelante en este capítulo.

La síntesis de ATP en la mitocondria está acoplada al transporte electrónico

En la fosforilación oxidativa, la transferencia de electrones al oxígeno por la ruta del complejo I al IV está acoplada a la síntesis de ATP, a partir de ADP y P_i a través de la ATP sintasa (complejo V). El número de ATP sintetizados depende del dador de electrones.

En experimentos realizados con mitocondrias aisladas, los electrones derivados del NADH interno (matriz) dan una relación de ATP:O (número de ATP sintetizados por cada dos electrones transferidos al oxígeno) de 2,4 a 2,7 (Tabla 11.1). Los valores obtenidos del succinato y del NADH añadido externamente son del rango 1,6 a 1,8, mientras que para el ascorbato, que actúa como dador artificial de electrones al citocromo c, los valores son del orden de 0,8 a 0,9. Estos resultados (tanto en mitocondrias vegetales como animales) han dado lugar a la teoría de que existen tres si-

TABLA 11.1
Relaciones teóricas y experimentales de ADP:O en mitocondrias vegetales aisladas

Sustrato	Relación ADP:O Teórica[a]	Relación ADP:O Experimental
Malato	2,5	2,4-2,7
Succinato	1,5	1,6-1,8
NADH (externo)	1,5	1,6-1,8
Ascorbato	1,0[b]	0,8-0,9

[a] Se supone que los complejos I, III y IV bombean 4, 4 y 2 H^+, respectivamente, por cada 2 electrones; que el coste de la síntesis de un ATP y su exportación al citosol es de 4 H^+ (Bran 1994) y que las rutas no fosforilativas no están activas.
[b] La citocromo *c*-oxidasa bombea sólo dos protones cuando se mide con ascorbato como dador de electrones. Sin embargo, dos electrones de la superficie externa de la membrana interna (donde los electrones son cedidos) cruzan la membrana interna hacia el lado interno de la matriz. Como resultado, se consumen 2 H^+ en la matriz. Esto significa que el movimiento neto de protones y cargas es equivalente al movimiento total de 4 H^+, que da una relación ADP:O de 1,0.

tios de conservación de la energía a lo largo de la cadena de transporte electrónico, y que se encuentran en los complejos I, III y IV.

Los valores experimentales de la tasa ADP:O se corresponden con los valores teóricos calculados en base al número de H^+ bombeados por los complejos I, III y IV y el coste de 4 H^+ para sintetizar un ATP (véase la sección siguiente y la tabla 11.1). Por ejemplo, los electrones del NADH externo pasan sólo a través de los complejos III y IV, por lo que se bombean 6 H^+, que generan 1,5 ATP (cuando no se utiliza la ruta de la oxidasa alternativa).

El mecanismo de síntesis mitocondrial de ATP está basado en la hipótesis quimiosmótica, descrita en el **tema web 6.3** y en el capítulo 7, y que fue propuesta en 1961 por el Premio Nóbel Peter Mitchell, como un mecanismo general de conservación de energía a través de las membranas biológicas (Nicholls y Ferguson 2000). De acuerdo con la teoría quimiosmótica, la orientación de los transportadores de la membrana mitocondrial interna permite la transferencia de protones (H^+) a través de la membrana mitocondrial durante el flujo de electrones. Numerosos estudios han confirmado que el transporte mitocondrial de electrones está asociado a una transferencia neta de protones desde la matriz mitocondrial hasta el espacio intermembranoso (véase la figura 11.8) (Whitehouse y Moore 1995).

Como la membrana mitocondrial interna es impermeable a los H^+, se puede generar un gradiente electroquímico de protones. Como se analizó en los capítulos 6 y 7, la energía libre asociada con la formación del gradiente electroquímico ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, también conocida como fuerza protón motriz, Δp, cuando se expresa en unidades de voltios) se genera a partir de un componente de potencial eléctrico de membrana (ΔE) y un componente de potencial químico (ΔpH), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\Delta p = \Delta E - 59\Delta pH$$

donde

$$\Delta E = E_{interior} - E_{exterior}$$

y

$$\Delta pH = pH_{interior} - pH_{exterior}$$

ΔE resulta de la distribución asimétrica de los iones (H^+) a través de la membrana y el ΔpH es debido a la diferencia de concentración de protones a ambos lados de la membrana. Como los protones son transportados desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso, el ΔE resultante a través de la membrana mitocondrial interna es negativo.

Como muestra esta ecuación, tanto ΔE como ΔpH contribuyen a la fuerza protón motriz de la mitocondria vegetal, aunque parece ser que el componente eléctrico es de mayor magnitud, probablemente debido a la capacidad reguladora del citosol y la matriz, que evita grandes cambios de pH. Esta situación contrasta con la de los cloroplastos, donde casi toda la fuerza protón motriz a través de la membrana de los tilacoides es generada por el gradiente de protones (véase el capítulo 7).

El aporte de energía libre necesario para generar $\Delta\tilde{\mu}_H$ procede de la energía libre liberada durante el transporte electrónico. No se conoce exactamente cómo este transporte está acoplado al transporte de protones. Debido a la baja permeabilidad de la membrana interna a los protones (conductancia), el gradiente electroquímico de protones es más o menos estable, una vez generado, y la energía libre almacenada en $\Delta\tilde{\mu}_H$ puede ser utilizada para realizar un trabajo químico (por ejemplo, la síntesis de ATP). El $\Delta\tilde{\mu}_H$ está acoplado a la síntesis de ATP por un complejo proteico adicional asociado a la membrana interna, la F_0F_1 ATP sintasa.

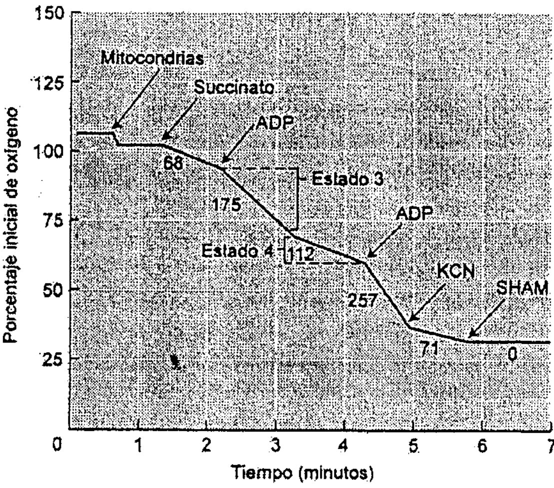
La **F_0F_1 ATP sintasa** (también llamada *complejo V*) consta de dos componentes principales, el F_1 y el F_0 (Figura 11.8). El F_1 es un complejo de proteínas periféricas de membrana que está formado por al menos cinco subunidades distintas y que contiene el sitio catalítico para convertir ADP y P_i en ATP. Este complejo está situado en el lado de la matriz de la membrana interna. El F_0 es un complejo de proteínas integrales de membrana que consta al menos de tres polipéptidos distintos que forman un canal a través del cual los protones son capaces de atravesar la membrana interna.

El paso de protones por los canales está acoplado al ciclo catalítico del componente F_1 de la ATP sintasa, permitiendo la síntesis de ATP y la utilización simultánea del $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$. Por cada ATP sintetizado, pasan 3 H^+ a través de F_0 desde el espacio intermembranoso a la matriz, a favor de su gradiente electroquímico de protones.

La resolución por rayos X de la estructura del complejo F_1 de la ATP sintasa mitocondrial de mamíferos apoya un «modelo rotacional» para el mecanismo catalítico

1. La adición de succinato inicia la transferencia mitocondrial de electrones que se mide con un electrodo de oxígeno como velocidad de reducción de oxígeno (a H_2O).

2. La adición de cianuro inhibe el flujo de electrones a través de la principal ruta del citocromo y sólo permite el flujo de electrones al oxígeno a través de una ruta resistente al cianuro, que es posteriormente inhibida por la adición de SHAM.



3. La adición de ADP estimula la transferencia de electrones (estado 3) al facilitar la disipación del gradiente electroquímico de protones. La velocidad es mucho mayor después de la adición del segundo ADP por la activación de la succinato deshidrogenasa.

4. Cuando todo el ADP se ha convertido en ATP, se invierte la transferencia de electrones y se produce a menor velocidad (estado 4).

Figura 11.9 Regulación de la tasa respiratoria por ADP durante la oxidación del succinato en mitocondrias aisladas de *Vigna radiata*. Las tasas de incorporación de oxígeno expresadas como consumo de O_2 (nmol min^{-1} mg proteína^{-1}) son los valores indicados bajo los marcadores. (Datos gentileza de Steven J. Stegink.)

de la síntesis de ATP (véase el **tema web 11.4**) (Abrahams y col. 1994). La estructura y función mitocondrial de la ATP sintasa es similar a la de la CF_0–CF_1 ATPasa de la fotofosforilación (véase el capítulo 7).

El mecanismo de acción de la síntesis quimiosmótica de ATP tiene varias implicaciones. Primero, el verdadero sitio de formación del ATP en la membrana mitocondrial interna es el complejo ATP sintasa, no los complejos I, III ó IV. Estos complejos actúan como sitios de *conservación de la energía*, por lo que el transporte electrónico está acoplado a la generación de $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$.

Segundo, la teoría quimiosmótica explica el mecanismo de acción de los desacopladores, un grupo de compuestos de estructura químicamente muy diversa (que incluyen el 2,4-dinitrofenol y la FCCP [p-trifluorometoxicarbonilcianurofenilhidrazina]) que disminuyen la síntesis de ATP mitocondrial y suelen estimular la tasa de transporte electrónico (véase el **tema web 11.5**). Estos compuestos hacen que la membrana interna sea permeable a los protones, lo que evita la formación de un $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ suficientemente grande como para promover la síntesis de ATP.

En experimentos con mitocondrias aisladas, se ha observado que la tasa de flujo de electrones más alta (medida como la velocidad de incorporación de oxígeno en presencia de un sustrato como el succinato) se observa tras la adición de ADP (estado conocido como *estado 3*) más que en su ausencia (Figura 11.9). El ADP proporciona un sustrato que estimula la disipación de $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ a través de la F_0F_1 ATP sintasa durante la síntesis de ATP. Una vez todo el ADP se ha convertido en ATP, el $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ aumenta de nuevo y reduce la tasa de flujo de electrones (*estado 4*). La relación de las tasas con y sin ADP (estado 3:estado 4) se conoce como la *tasa de control respiratorio*.

Los transportadores intercambian sustratos y productos

El gradiente eléctrico de protones juega un papel importante en el movimiento de los ácidos orgánicos del ciclo del ácido cítrico y de los sustratos y productos de la síntesis de ATP en el interior y en el exterior del orgánulo. Aunque la mitocondria sintetiza ATP en la matriz mitocondrial, la mayor parte de éste se consume en el exterior de este orgánulo, por lo que se necesita un mecanismo eficiente para transportar el ADP hacia el interior y el ATP hacia el exterior de la mitocondria.

El transporte de adenilato implica otras proteínas de la membrana interna, el transportador ADP/ATP (nucleótido de adenina) que cataliza el intercambio de ADP y ATP a través de la membrana interna (Figura 11.10). El gradiente de potencial eléctrico (ΔE, positivo en el exterior) generado por el bombeo de protones dirige el movimiento del ATP^{4-}, cargado más negativamente, hacia el exterior de la mitocondria en un intercambio con ADP^{3-}, es decir, se produce la salida de una carga negativa.

Así pues, la absorción de fosfato inorgánico (P_i) implica una proteína transportadora de fosfato activa que utiliza el componente del gradiente de protones (ΔpH) de la fuerza protón motriz para dirigir el intercambio electroneutro de P_i^- (interior) por OH^- (exterior). Como el ΔpH se mantiene a través de la membrana interna, el contenido de fosfato en la matriz será alto. Un razonamiento similar se aplica a la incorporación de piruvato, que está dirigido por un intercambio electroneutro de piruvato por OH^-, y provoca una incorporación continua del piruvato desde el citoplasma (Figura 11.10).

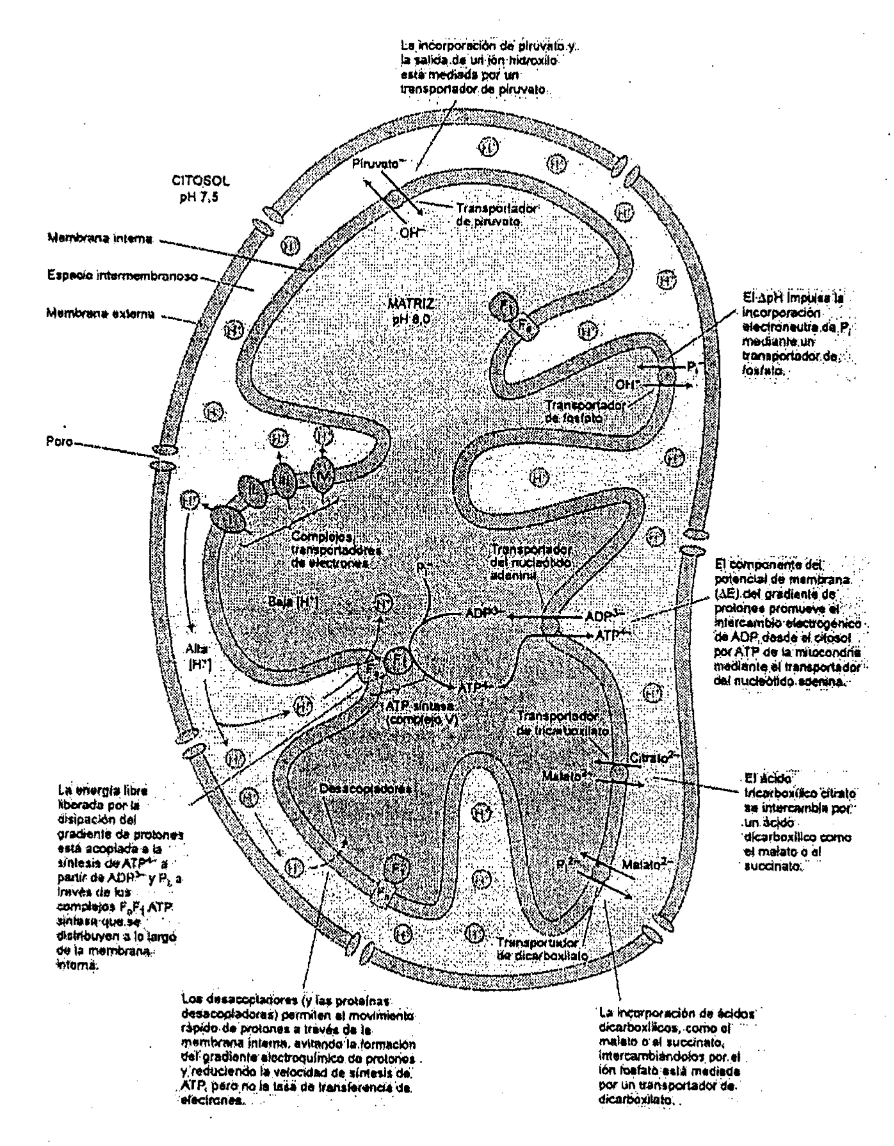


Figura 11.10 Transporte transmembrana en la mitocondria vegetal. Se establece un gradiente electroquímico de protones ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$) a través de la membrana mitocondrial interna durante el transporte de electrones que consta de un componente del potencial de membrana (ΔE, –200mV, negativo en el interior) y el ΔpH (alcalino en el interior), como se detalla en el texto. Los metabolitos se mueven a través de la membrana mediante proteínas especializadas, llamadas transportadores o proteínas transportadoras (Según Douce 1985).

El coste total de la incorporación de un fosfato (1 OH^- en el exterior es lo mismo que un 1 H^+ en el interior) y de intercambiar ADP por ATP (una carga negativa en el exterior es lo mismo que una carga positiva en el interior) es de 1 H^+. Este protón también debería ser incluido en el cálculo del coste de la síntesis de un ATP. Por tanto, el coste total es de 3 H^+ utilizado para la síntesis de ATP y 1 H^+ para el intercambio a través de la membrana, es decir, 4 H^+ en total.

La membrana interna también contiene transportadores para ácidos dicarboxílicos (malato o succinato) que se intercambian por P_i^{2-} y para ácidos tricarboxílicos que se intercambian por malato (véase la figura 11.10 y el **tema web 11.5**).

La respiración aeróbica produce 60 moléculas de ATP por molécula de sacarosa

La oxidación completa de una molécula de sacarosa conduce a la formación neta de:

- 8 moléculas de ATP por fosforilación a nivel de sustrato (4 durante la glicólisis y 4 en el ciclo del ácido cítrico)
- 4 moléculas de NADH en el citosol
- 16 moléculas de NADH y 4 moléculas de $FADH_2$ (vía succinato deshidrogenasa) en la matriz mitocondrial

Basándonos en los valores teóricos de la relación ADP:O (véase la tabla 11.1), se generan aproximadamente un total de 52 moléculas de ATP por sacarosa en la fos-

Tabla 11.2
Rendimiento máximo de ATP citosólico a partir de la oxidación completa de la sacarosa a CO_2 en la glicólisis aeróbica y en el ciclo del ácido cítrico

Reacciones	ATP por sacarosa[a]	
Glicólisis		
4 fosforilaciones a nivel de sustrato		4
4 NADH	4×1,5	6
Ciclo del ácido cítrico		
4 fosforilaciones a nivel de sustrato		4
4 $FADH_2$	4×1,5	6
16 NADH	16×2,5	40
Total		60

Fuente: Adaptado de Brand 1994.
Nota: Se supone que el NADH citosólico es oxidado por la NADH deshidrogenasa externa. Se supone que las rutas no fosforilativas no están activas.
[a]Calculado utilizando los valores teóricos de la tabla 11.1.

forilación oxidativa. El resultado global es un total de 60 ATP sintetizados por cada sacarosa (tabla 11.2). Tomando un valor de 50 kJ mol^{-1} (12 kcal mol^{-1}) para la energía libre de formación de ATP *in vivo*, la energía libre que se conserva en forma de ATP por molécula de sacarosa oxidada durante la respiración aeróbica es de unos 3 3010 kJ mol^{-1} (720 kcal mol^{-1}). Esta cantidad representa un 52 % de la energía libre estándar disponible inicialmente en la oxidación completa de la sacarosa; el resto se pierde en forma de calor. Estos valores suponen una mejora notable respecto a la conversión del 4 % de la energía disponible en la sacarosa a ATP asociada al metabolismo fermentativo.

Varias subunidades de los complejos respiratorios son codificadas por el genoma mitocondrial

Nuestro conocimiento sobre el genoma mitocondrial ha mejorado al disponer de la primera secuencia completa del DNA mitocondrial vegetal (mtDNA) de *Arabidopsis thaliana* (Marienfeld y col. 1999).

Algunas características del sistema genético mitocondrial vegetal no se encuentran en las mitocondrias de animales, protozoos o incluso hongos. Entre esas características especiales está el procesado del RNA, que difiere entre la mitocondria vegetal y la de otros muchos organismos. Varios genes mitocondriales vegetales contienen intrones y algunos genes incluso han de ser cortados y empalmados para formar posteriormente las moléculas del transcrito. El mtDNA vegetal también carece de la estricta complementariedad para ser traducido a mRNA (véase el **tema web 11.6**). Otra característica importante del sistema genético mitocondrial vegetal es que sigue estrictamente el código genético universal, no mostrando ninguna de las desviaciones encontradas en los mtDNA de todos los demás reinos.

Los genomas mitocondriales vegetales generalmente son más largos que los de los animales. El mtDNA vegetal tiene entre 200 y 2400 pares de kilobases (kb) de tamaño, con grandes variaciones incluso entre especies vegetales estrechamente relacionadas. El genoma mitocondrial de mamíferos tiene un tamaño uniforme de unos 16 kb. Las diferencias de tamaño son debidas principalmente a la presencia en el mtDNA de muchas secuencias no codificantes, que incluyen numerosos intrones. El mtDNA de mamíferos sólo codifica 13 proteínas, a diferencia de las 35 proteínas codificadas por el mtDNA de *Arabidopsis*. Tanto las mitocondrias vegetales como las de mamíferos codifican rRNA y tRNA.

Los genes del mtDNA se pueden clasificar en dos grandes grupos: aquellos que necesitan genes nucleares para expresarse (tRNA, mRNA y proteínas ribosómicas) y los de los complejos de la fosforilación oxidativa. El mtDNA vegetal codifica nueve subunidades del complejo I, una del complejo III, tres del complejo IV, tres de la ATP sintasa y cinco proteínas de la biogénesis de los citocromos (Marienfeld y col. 1999). Las subunidades codificadas en la mitocondria son esenciales para la actividad de los complejos respiratorios, una característica que también se hace evidente por la conservación de la secuencia en sus homólogos bacterianos. El genoma nuclear codifica todas las demás proteínas no codificadas por el mtDNA, en su gran mayoría las proteínas del ciclo del ácido cítrico. Las proteínas mitocondriales codificadas por el genoma nuclear son sintetizadas en los ribosomas citosólicos e importadas a la membrana interna mitocondrial a través de transportadores. Por tanto, la fosforilación oxidativa depende de la expresión de genes localizados en los dos genomas que están espacialmente separados. Cualquier cambio en la expresión en respuesta a un estímulo o por razones de desarrollo debe ser coordinado.

Aunque la expresión de los genes nucleares para las proteínas mitocondriales parece estar regulada como otros genes nucleares, se sabe mucho menos acerca de la expresión de los genes mitocondriales. El DNA circular de las mitocondrias vegetales normalmente se divide en varios segmentos subgenómicos más pequeños y los genes pueden ser regulados negativamente por una disminución del número de copias de un segmento del mtDNA (León y col. 1998). Los promotores genómicos en el mtDNA son de varias clases y muestran diferente actividad transcripcional. Sin embargo, parece ser que un punto principal de control de la expresión de los genes mitocondriales es a nivel post-transcripcional, por degradación del exceso de polipéptidos (McCabe y col. 2000).

Las plantas tienen varios mecanismos que reducen la producción de ATP

Como hemos visto, se necesita una compleja maquinaria para conseguir una alta eficiencia en la conservación de la energía por fosforilación oxidativa. Por eso es sorprendente que la mitocondria vegetal tenga varias proteínas funcionales que reducen esta eficiencia. Probablemente, las plantas están menos limitadas por el aporte de energía (luz del sol) que por otros factores ambientales (como el acceso al nitrógeno o al fosfato). En consecuencia, la flexibilidad adaptativa es más importante que la eficiencia energética.

En los siguientes apartados analizaremos la función de los mecanismos que no implican fosforilación y su posible utilidad en la vida de la planta.

La oxidasa alternativa. Si se añade cianuro (1 mM) a tejidos animales que respiran activamente, se inhibe la citocromo *c* oxidasa y la tasa respiratoria disminuye rápidamente a menos de un 1 % de su nivel inicial. No obstante, la mayoría de los tejidos vegetales experimentan una tasa de respiración resistente al cianuro que representa entre un 10 y un 25 % del total, y que en algunos tejidos puede alcanzar hasta

el 100 %. Se ha identificado el enzima responsable de esta incorporación de oxígeno como un componente de la oxidasa resistente al cianuro de la cadena de transporte electrónico de la mitocondria vegetal llamada **oxidasa alternativa** (véase la figura 11.8 y el **tema web 11.3**) (Vanlerberghe y McIntosh 1997).

Los electrones entran en la cadena de transporte electrónico en la ruta alternativa a nivel del conjunto de las ubiquinonas (véase la figura 11.8). La oxidasa alternativa, el único componente de la ruta alternativa, cataliza la reducción de cuatro electrones del oxígeno al agua y está inhibida específicamente por varios compuestos, siendo el más notable el ácido salicilhidroxiamónico (SHAM).

Cuando los electrones se desvían por la ruta alternativa desde el conjunto de ubiquinonas, se saltan dos sitios de bombeo de protones (en los complejos III y IV). Así, cuando los electrones son desviados a través de la ruta alternativa, la energía libre que normalmente sería almacenada como ATP se pierde como calor, porque, entre la ubiquinona y el oxígeno no hay sitios de conservación de energía en la ruta alternativa.

¿Cómo puede contribuir al metabolismo vegetal un proceso energéticamente despilfarrador como es la ruta resistente al cianuro? Un ejemplo de la utilidad funcional de la oxidasa alternativa es su actividad durante el desarrollo floral en ciertos miembros de aráceas (la familia del *Arum*), por ejemplo el lirio vudú (*Sauromatum guttatum*). Justo antes de la polinización, los tejidos del *espádice* (inflorescencia que contiene flores masculinas y femeninas) presenta altas tasas de respiración gracias al funcionamiento de la ruta alternativa. En consecuencia, se produce un aumento de la temperatura en el espádice de más de 25°C sobre la temperatura ambiente durante un período de unas 7 horas.

Durante este extraordinario aumento de la producción de calor, se volatilizan ciertas aminas, indoles y terpenos y la planta adquiere un olor a podrido que atrae a los insectos que llevan a cabo la polinización. El ácido salicílico, un compuesto relacionado con la aspirina (véase el capítulo 13) ha sido identificado como la señal química responsable del inicio del proceso termogénico en el lirio vudú (Raskin y col. 1989) (véase el **ensayo web 11.3**). En la mayoría de las plantas, las tasas respiratorias y el nivel de respiración resistente al cianuro son demasiado bajos como para generar aumentos significativos de calor, por eso se plantea la cuestión: ¿qué otra(s) función(es) puede tener la ruta alternativa?

Se ha sugerido que esta ruta alternativa podría actuar como un «sobreflujo de energía», oxidando sustratos respiratorios que se acumulan en exceso respecto a las necesidades de crecimiento, reserva o síntesis de ATP (Lambers 1985). Este punto de vista sugiere que los electrones son desviados a la ruta alternativa sólo cuando la capacidad de la ruta principal está saturada. Esta saturación se alcanza en los ensayos *in vitro* en el estado 4 (véase la figura 11.9), la saturación *in vivo* podría ocurrir si la tasa de respiración excediera las necesidades de ATP de la célula (por ejemplo, si los niveles de ADP fueran bajos). Sin embargo, no está claro que la oxidasa alternativa pueda estar activa antes de que la ruta del citocromo esté saturada. Así, la oxidasa alternativa permite ajustar el funcionamiento de la mitocondria a las tasas relativas de producción de ATP y de síntesis de esqueletos carbonados utilizados en las reacciones biosintéticas.

Otra posible función de la ruta alternativa es en respuesta de las plantas a diferentes situaciones de estrés (deficiencia de fosfato, enfriamiento, sequía, estrés osmótico, etc.), muchos de los cuales inhiben la respiración mitocondrial (véase el capítulo 25 y el **ensayo web 11.1**) (Wagner y Krab 1995).

Cuando se canalizan los electrones de la cadena de transporte electrónico a través de la ruta alternativa, se evita la sobrerreducción del conjunto de ubiquinonas (véase la figura 11.8) que, si no tuviera lugar, podría conducir a la generación de especies reactivas de oxígeno, como aniones superóxido y radicales hidroxilo. De esta forma, la ruta alternativa puede reducir los efectos perjudiciales del estrés sobre la respiración (véase el **ensayo web 11.4**) (Wagner y Krab 1995; Møller 2001).

La proteína desacopladora. Una proteína que se encuentra en la membrana interna de la mitocondria de mamíferos, la **proteína desacopladora**, puede aumentar dramáticamente la permeabilidad de la membrana a los protones y actuar así como un desacoplador. Como consecuencia de ello, se genera menos ATP y más calor. La producción de calor parece ser una de las funciones de la proteína desacopladora en las células de mamíferos.

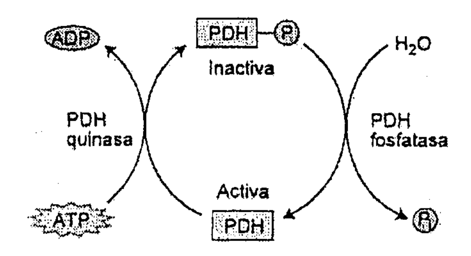
Durante mucho tiempo se ha creído que la oxidasa alternativa de las plantas y la proteína desacopladora de mamíferos eran simplemente dos formas diferentes de alcanzar el mismo fin. Fue por ello sorprendente el descubrimiento en mitocondrias vegetales de una proteína similar a la proteína desacopladora (Vercesi y col. 1995; Laloi y col. 1997). Esta proteína es inducida por estrés y, como la oxidasa alternativa, puede funcionar para evitar la sobrerreducción de la cadena de transporte electrónico (véase el **tema web 11.3** y el **ensayo web 11.4**). No obstante, todavía no está claro por qué la mitocondria vegetal necesita los dos mecanismos.

La NADH deshidrogenasa interna insensible a la rotenona, ND_{in}(NADH). Esta es una de las múltiples NAD(P)H deshidrogenasas que se encuentran en las mitocondrias vegetales (véase la figura 11.8). Se ha sugerido que funciona como una alternativa, que no bombea protones cuando el complejo I está sobrecargado. El complejo I tiene una afinidad mayor por el NADH (una K_m diez veces menor) que ND_{in}(NADH). A niveles bajos de NADH en la matriz, normalmente cuando hay ADP disponible (estado 3), el complejo I dominará, mientras que cuando el ADP sea un factor limitante (estado 4), los niveles de NADH aumentarán y ND_{in}(NADH) será más activa. No obstante, la importancia fisiológica de este enzima sigue todavía sin conocerse.

La respiración mitocondrial está regulada por metabolitos clave

Los sustratos de la síntesis de ATP, el ADP y el P_i, parecen ser los reguladores clave de las tasas de la glicólisis en el citosol y del ciclo del ácido cítrico y de la fosforilación en la mitocondria. Parecen existir tres puntos de control en tres etapas de la respiración. A continuación haremos un breve repaso general de las características más destacadas de cada uno de ellos.

El punto de regulación mejor caracterizado del ciclo del ácido cítrico es el complejo piruvato deshidrogenasa, que es fosforilado reversiblemente por una quinasa y una fosfatasa reguladoras. La piruvato deshidrogenasa es activa en el estado fosforilado y la quinasa reguladora es inhibida por piruvato, lo que permite que el enzima sea activo cuando el sustrato está disponible (véase la figura 11.11). Además, varios enzimas del ciclo del ácido cítrico, incluidas la piruvato deshidrogenasa y la 2-oxoglutarato deshidrogenasa, son inhibidos directamente por NADH.



Piruvato + CoA + NAD^+ ⟶ Acetil CoA + CO_2 + NADH

Efecto sobre la actividad PDH	Mecanismo
Activador	
Piruvato	Inhibe la quinasa
ADP	Inhibe la quinasa
Mg^{2+} (o Mn^{2+})	Estimula la fosfatasa
Inhibidor	
NADH	Inhibe la PDH Estimula la quinasa
Acetil CoA	Inhibe la PDH Estimula la quinasa
NH_4^+	Inhibe la PDH Estimula la quinasa

Figura 11.11 Regulación de la actividad de la piruvato deshidrogenasa (PDH) por fosforilación reversible y por otros metabolitos.

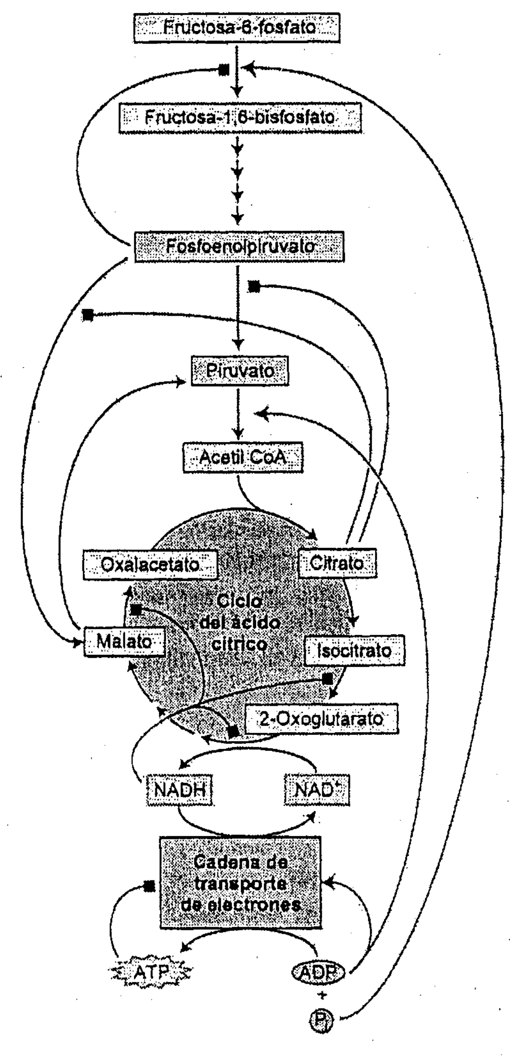


Figura 11.12 Concepto de regulación por estimulación por sustrato e inhibición por producto (*bottom-up*) de la respiración vegetal. Varios sustratos de la respiración (por ejemplo, ADP) estimulan a los enzimas en las primeras etapas de las rutas (flechas verdes). Por el contrario, la acumulación de productos (como el ATP) inhibe parcialmente (cuadros rojos) las reacciones iniciales. Por ejemplo, el ATP inhibe la cadena de transporte electrónico y provoca la acumulación de NADH. El NADH inhibe los enzimas del ciclo del ácido cítrico como la isocitrato deshidrogenasa y la 2-oxoglutarato deshidrogenasa. Entonces, los intermediarios del ácido cítrico como el citrato inhiben a las enzimas del metabolismo del PEP en el citosol. Finalmente, el PEP inhibe la conversión de la fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato y reduce la incorporación del carbono a la glicólisis. (Véase el esquema en color en el CD.)

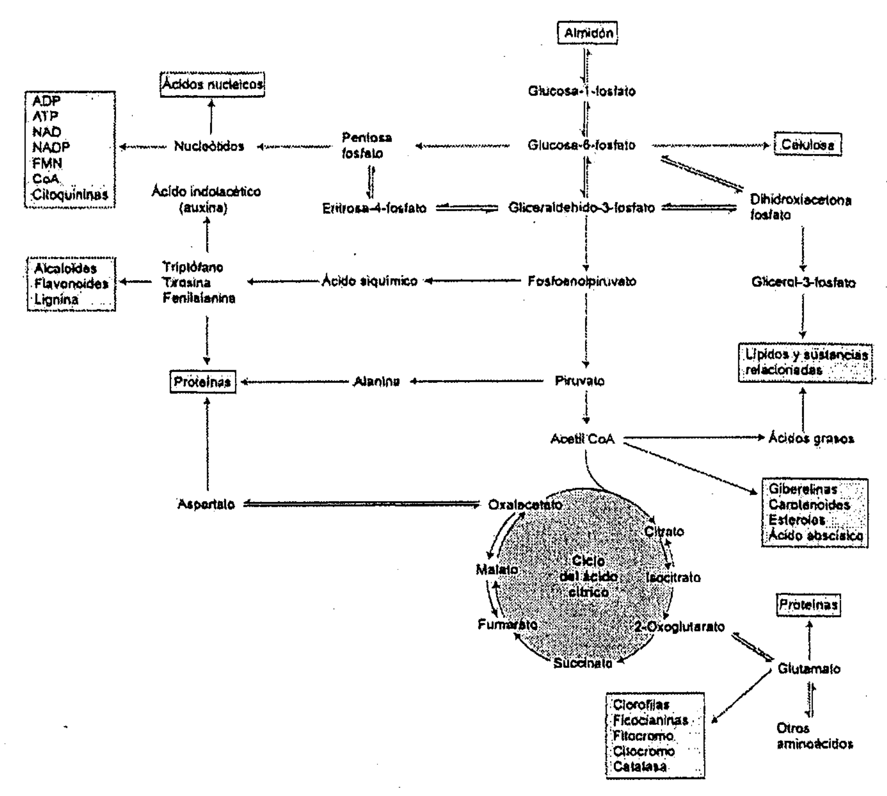


Figura 11.13 La glicólisis, la ruta de las pentosas fosfato y el ciclo del ácido cítrico contribuyen con intermediarios a muchas rutas biosintéticas en plantas superiores. Esta figura no pretende ser completa. Las rutas mostradas ilustran el grado de dependencia de la biosíntesis vegetal respecto del flujo de carbono a través de estas rutas y destaca el hecho de que no todo el carbono que entra en la ruta glicolítica es oxidado a CO_2.

Las oxidaciones del ciclo del ácido cítrico, y la subsiguiente respiración, están controladas dinámicamente por el nivel celular de los nucleótidos de adenina. A medida que aumenta la demanda celular de ATP en la mitocondria, disminuye la cantidad de ADP disponible y la cadena de transporte electrónico reducirá su velocidad (véase la figura 11.10). Este retraso puede ser comunicado a los enzimas del ciclo del ácido cítrico como un aumento de NADH en la matriz, aumento que inhibe varias deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico (Oliver y McIntosh 1995).

La generación de intermediarios del ciclo del ácido cítrico y sus derivados, como el citrato y el glutamato, inhibe la acción de la piruvato quinasa citosólica, y aumenta así la concentración citosólica de PEP, que reduce la tasa de conversión de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bisfosfato e inhibe la glicólisis.

En resumen, las tasas respiratorias vegetales están controladas por estimulación por sustrato e inhibición por producto (*bottom-up*) por el nivel celular de ADP (Figura 11.12). Inicialmente, el ADP regula la tasa de la transferencia electrónica y la síntesis de ATP, de hecho, regula la actividad del ciclo del ácido cítrico que, finalmente, regula la velocidad de las reacciones glicolíticas.

La respiración está fuertemente acoplada a otras rutas

La glicólisis y el ciclo del ácido cítrico están ligados a un gran número de rutas metabólicas importantes, algunas de las cuales se tratarán con detalle en el capítulo 13. Las rutas responsables son claves en la producción de una gran variedad de metabolitos vegetales, incluidos aminoácidos, lípidos y compuestos relacionados, isoprenoides y porfirinas (Figura 11.13). De hecho, una gran parte del carbono que se metaboliza en la glicólisis y en el ciclo del ácido cítrico se desvía a fines biosintéticos y no es oxidado a CO_2.

LA RESPIRACIÓN EN PLANTAS INTACTAS Y TEJIDOS

Se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la respiración vegetal y su regulación en orgánulos aislados y en extractos de células libres de tejidos vegetales. Pero, ¿cómo se relaciona estos conocimientos con la función de la planta entera en su medio natural o agrícola?

En esta sección examinaremos la función de la mitocondria y de la respiración en el contexto de la planta entera en diferentes situaciones. Primero, cuando los tejidos verdes se exponen a la luz, la respiración y la fotosíntesis actúan simultáneamente e interactúan de un modo complejo. A continuación analizaremos las tasas de respiración de los tejidos, que pueden estar bajo control del desarrollo, así como el caso de la esterilidad citoplasmática masculina. Finalmente, veremos la influencia de varios factores ambientales sobre las tasas respiratorias.

Las plantas, al respirar consumen la mitad del rendimiento fotosintético diario

Existen numerosos factores que pueden afectar a las tasas respiratorias de la planta, así como a los órganos individuales de la planta. Entre éstos, están las especies y el hábitat de crecimiento, el tipo y edad del órgano en concreto y variaciones ambientales tales como la concentración externa de oxígeno, la temperatura, los nutrientes y el aporte de agua (véase el capítulo 25, el **tema web 11.7** y el **ensayo web 11.5**).

Las tasas respiratorias de la planta intacta son generalmente más bajas que las tasas respiratorias de tejidos animales, sobre todo cuando se considera respecto al peso fresco. Esta diferencia se debe, en gran medida, a la presencia en las células vegetales de una gran vacuola central y de los compartimentos de la pared vegetal, ninguno de los cuales contiene mitocondrias. Sin embargo, las tasas respiratorias en algunos tejidos vegetales son tan altas como las tasas observadas en tejidos animales que están respirando activamente. Por tanto, el proceso respiratorio vegetal no es inherentemente más lento que la respiración en animales. De hecho, las mitocondrias vegetales aisladas respiran más rápido que las mitocondrias de mamíferos, cuando se expresan respecto a mg de proteína.

A pesar de que las tasas respiratorias vegetales son más bajas, la contribución de la respiración a la economía del carbono total de la planta puede ser importante. Un análisis de algunas especies herbáceas ha indicado que un 30-60 % de la cantidad de carbono fijada diariamente por fotosíntesis se pierde en la respiración, aunque estos valores tienden a disminuir en las plantas más viejas (Lambers 1985).

Los árboles jóvenes pierden por respiración una tercera parte de la cantidad de los fotoasimilados que diariamente incorporan, y esta pérdida puede duplicarse en árboles más viejos, mientras que la proporción entre tejidos fotosintéticos y no fotosintéticos disminuye. En zonas tropicales, el 70-80 % del carbono fijado fotosintéticamente puede perderse debido a las elevadas tasas respiratorias que se producen en oscuridad y que están asociadas con las altas temperaturas nocturnas.

La respiración actúa durante la fotosíntesis

Las mitocondrias están implicadas en el metabolismo de las hojas que fotosintetizan. La glicina generada en la fotorrespiración es oxidada a serina en la mitocondria (véase el capítulo 8). Al mismo tiempo, la mitocondria en tejidos fotosintéticos también lleva a cabo la respiración a través del ciclo del ácido cítrico (con frecuencia llamada *respiración oscura*, ya que no necesita luz). Cuando se compara la tasa máxima de fotosíntesis y las tasas respiratorias en oscuridad medidas en tejidos verdes, se encuentra que éstas últimas son bastante más lentas, normalmente en un rango de 6 a 20 veces menores. Dado que las tasas fotorrespiratorias pueden ser con frecuencia entre el 20 y el 40 % de la tasa fotosintética, la respiración mitocondrial mediada por el ciclo del ácido cítrico actúa a tasas también por debajo de la tasa de fotorrespiración.

Una cuestión todavía por resolver es ¿qué nivel de respiración mitocondrial (aparte de la implicación de la mitocondria en el ciclo de oxidación fotorrespiratorio del carbono) actúa simultáneamente en tejidos verdes iluminados? La actividad de la piruvato deshidrogenasa, una de las puertas de entrada al ciclo del ácido cítrico, disminuye, en presencia de luz, a un 25 % de la actividad que tiene en oscuridad (Budde y Randall 1990). La tasa global de la respiración disminuye en presencia de la luz, pero el valor de este descenso es incierto. Lo que está claro, no obstante, es que la mitocondria es el principal suministrador de ATP al citosol, incluso en hojas iluminadas (Krömer 1995).

Otra función de la respiración mitocondrial durante la fotosíntesis es aportar metabolitos de carbono para las reacciones biosintéticas, por ejemplo, la formación del 2-oxoglutarato, necesario para la asimilación del nitrógeno. Las mitocondrias de las hojas suelen ser capaces de realizar rutas alternativas sin formación de ATP en la cadena de transporte electrónico. Por oxidación del NADH con un bajo rendimiento de ATP, la mitocondria puede mantener una producción más alta de 2-oxoglutarato mediante las rutas respiratorias sin estar restringida por la demanda citosólica de ATP (véanse las figuras 11.7C y 11.12) (Hoefnagel y col. 1998; Noctor y Foyer 1998).

A partir de estudios con mutantes deficientes en los complejos respiratorios, se han obtenido evidencias adicionales de la implicación de la respiración mitocondrial en las hojas que realizan la fotosíntesis. Dichos estudios han demostrado que el desarrollo de la hoja y la fotosíntesis se ven afectados negativamente (Vedel y col. 1999).

Los diferentes órganos y tejidos respiran a tasas diferentes

De todas las actividades metabólicas de un tejido dado, se considera que la tasa respiratoria es la mayor. Los brotes en desarrollo muestran elevadas tasas respiratorias (expresadas como peso fresco) y las tasas respiratorias de tejidos vegetativos normalmente disminuyen desde las zonas de crecimiento (por ejemplo, el ápice de la hoja de las dicotiledóneas y la base de la hoja en monocotiledóneas) hasta las regiones más diferenciadas. Un ejemplo bien conocido es el estudio del crecimiento de hojas de cebada (Thompson y col. 1998). En tejidos vegetativos maduros, los tallos suelen tener tasas respiratorias más bajas y las tasas respiratorias de hojas y raíces dependen de las especies vegetales y de las condiciones en las que crecen las plantas.

Cuando un tejido vegetal ha alcanzado su madurez, la tasa respiratoria se mantiene más o menos constante o disminuye ligeramente con la edad de los tejidos y, al final, entra en senescencia. Un comportamiento excepcional es el conocido como *climatérico*, que es un aumento de la respiración que acompaña el inicio de la maduración en muchos frutos (aguacate, manzana, plátano) y senescencia de hojas y flores. Tanto la maduración como el climaterio respiratorio se inducen tanto por la producción endógena de etileno, como por su aplicación exógena (véase el capítulo 22). En general, la respiración inducida por etileno está asociada a la ruta alternativa resistente al cianuro, aunque la función de esta ruta en la maduración todavía no ha sido determinada (Tucker 1993).

La función mitocondrial es crucial para el desarrollo del polen

Una característica fisiológica directamente ligada al genoma mitocondrial vegetal es un fenómeno conocido como **esterilidad citoplasmática masculina**, o *cms*. Las líneas de plantas que presentan *cms* no forman polen viable, de ahí la designación de *esterilidad masculina*. El término *citoplasmático* se refiere a que se trata de un carácter que se transmite siguiendo un patrón de herencia no mendeliano; el genotipo *cms* se hereda siempre por vía materna con el genoma mitocondrial. El *cms* es un carácter muy importante en los cultivos vegetales debido a que la existencia de una línea estable de esterilidad masculina facilita la formación de semillas híbridas. Para este fin, el carácter *cms* no produce ningún otro efecto importante en el ciclo vital de la planta, excepto la esterilidad masculina, por lo que se ha encontrado en muchas especies vegetales.

Todas las plantas que tienen el carácter *cms* se han caracterizado a nivel molecular y presentan diferentes reordenamientos en su mtDNA, respecto a las plantas de tipo silvestre. Estos reordenamientos crean una nueva pauta de lectura abierta y se los ha relacionado con el fenotipo *cms* en varios sistemas. Hay genes nucleares que pueden anular los efectos de los reordenamientos del mtDNA y reestablecer la fertilidad en plantas con genotipo *cms*. Estos genes nucleares son esenciales para la utilización comercial de *cms* si las semillas son el producto de la cosecha.

A finales de los años 1960, se produjo una curiosa consecuencia del uso del gen *cms*. En ese momento, el 85 % del maíz híbrido utilizado como pienso en Estados Unidos procedía de una línea *cms* de maíz llamada *cms*-T (Texas). En el maíz *cms*-T, los reordenamientos del mtDNA codificaban una única proteína de 13 kDa llamada URF13 (Levings y Siedow 1992). Se desconocía cómo actuaba la proteína URF13 para provocar la esterilidad masculina, pero a finales de los años 1960, apareció una enfermedad causada por una variedad del hongo *Bipolaris maydis* (también llamado *Cochliobolus heterostrophus*). Esta cepa específica sintetiza un compuesto (toxina HmT) que interactúa específicamente con la proteína URF13 y crea poros en la membrana mitocondrial interna, lo que provoca la pérdida de la permeabilidad selectiva.

La interacción entre la toxina HmT y la proteína URF13 provocó que la cepa T de *Bipolaris maydis* fuera un patógeno particularmente virulento sobre el maíz *cms*-T, y provoca una epidemia en las regiones de los Estados Unidos donde se cultivaba maíz, conocida como la plaga del sur de la hoja de maíz. A raíz de esta epidemia, se interrumpió el uso de la línea *cms*-T en la producción de maíz híbrido. No se ha encontrado otro maíz *cms* que sea un sustituto adecuado de *cms-T*. Por eso la producción de semillas híbridas de maíz ha quedado reducida a la eliminación manual del polen que evita la autopolinización.

Comparado con otros órganos, la cantidad de mitocondrias por célula y la expresión de las proteínas respiratorias son muy altas en las anteras en desarrollo, donde el desarrollo del polen es un proceso que requiere energía (Huang y col. 1994). La esterilidad masculina es un fenotipo común en mutaciones de genes mitocondriales de las subunidades de los complejos de la fosforilación oxidativa (Vedel y col. 1999). Estos mutantes pueden ser viables debido a la existencia de rutas respiratorias alternativas no fosforilantes.

La **muerte celular programada (PCD)** es una etapa normal del desarrollo de las anteras. Existen evidencias de que las mitocondrias están implicadas en la PCD vegetal y que la PCD es prematura en las anteras de girasoles *cms* (véase el **ensayo web 11.6**).

Factores ambientales que pueden alterar la tasa respiratoria

Existen numerosos factores ambientales que pueden alterar el funcionamiento de las rutas metabólicas y la tasa respiratoria. A continuación analizaremos las funciones del oxígeno ambiental (O_2), la temperatura y el dióxido de carbono (CO_2).

Oxígeno. El oxígeno puede afectar a la respiración de las plantas debido a su papel como sustrato en todo el proceso. A 25 °C, la concentración de oxígeno en aire saturado en equilibrio con la solución acuosa (21 % de O_2) es de unos 250 µM. El valor de la K_m para el oxígeno en la reacción de la citocromo oxidasa es difícil de determinar exactamente porque es inferior a 1 µM y, por tanto, no hay una dependencia aparente entre la tasa respiratoria y la concentración externa de oxígeno (para un análisis detallado de K_m, véase el capítulo 2 en la página web). Sin embargo, se ha observado una disminución de la tasa respiratoria si la concentración de oxígeno cae por debajo del 5 % en todos los tejidos o por debajo del 2-3 % en algunas secciones de éstos. Estos descubrimientos indican que la difusión del oxígeno a través de la fase acuosa en el tejido impone una limitación a la respiración vegetal.

La difusión limitada impuesta por una fase acuosa destaca la importancia de los espacios aéreos intercelulares de los tejidos vegetales en la disponibilidad de oxígeno en la mitocondria. Si no hubiera una ruta de difusión gaseosa a través de toda la planta, la tasa respiratoria celular de muchas plantas estaría limitada por un aporte de oxígeno insuficiente (véase el **ensayo web 11.3**).

Saturación por agua / hipoxia. La difusión limitada es aún más significativa cuando los órganos vegetales crecen en un medio acuoso. Cuando las plantas se cultivan en un medio hidropónico, es necesario airear vigorosamente las soluciones para mantener niveles de oxígeno elevados en las proximidades de las raíces. El problema del aporte de oxígeno se produce, sobre todo, en las plantas que crecen en terrenos muy húmedos o inundados (véase el capítulo 25).

Algunas plantas, particularmente árboles, están limitadas a vivir en una distribución geográfica determinada por la necesidad de mantener un cierto aporte de oxígeno a sus

raíces. Por ejemplo, algunos árboles pueden sobrevivir sólo en suelos muy secos y aireados porque sus raíces son incapaces de tolerar inundaciones. Por otro lado, muchas plantas pueden adaptarse al crecimiento en suelos inundados. Especies herbáceas como el arroz y el girasol dependen de la existencia de espacios aéreos intercelulares (aerénquima) que recorran toda la planta, desde las raíces hasta las hojas, para proporcionar una ruta gaseosa continua para el movimiento de oxígeno a las raíces inundadas.

La limitación del aporte de oxígeno puede ser más importante para árboles con raíces muy profundas que crecen en suelos muy húmedos. Estas raíces deben sobrevivir con un metabolismo anaeróbico (fermentativo) y desarrollar estructuras que faciliten el movimiento de oxígeno a las raíces. Un buen ejemplo de esto son las partes aéreas de las raíces, llamadas *pneumatóforos*, que sobresalen del agua y proporcionan una ruta gaseosa para la difusión del oxígeno a las raíces. Los pneumatóforos se encuentran en árboles de *Avicenia* y *Rhizophora*, que crecen en pantanos, en condiciones de inundación continua.

Temperatura. La respiración, normalmente, aumenta con la temperatura (véase el **ensayo web 11.3**). Entre 0 y 30 °C, por cada 10 °C de aumento de la temperatura ambiental (conocido como coeficiente de temperatura, Q_{10}) el aumento de la tasa de respiración es de 2. Sobre los 30 °C la tasa de respiración suele aumentar más lentamente, hasta que alcanza un punto (entre 40 y 50 °C) a partir del cual, si aumenta la temperatura la tasa de respiración disminuye. Se cree que las altas temperaturas nocturnas explican las elevadas tasas respiratorias de las plantas tropicales.

Las bajas temperaturas son utilizadas para retardar la tasa respiratoria después de la cosecha, durante el almacenamiento de frutas y vegetales. Sin embargo, en esta práctica pueden surgir ciertas complicaciones. Por ejemplo, cuando los tubérculos de patata se almacenan a temperaturas que rondan los 10 °C, la respiración y las actividades metabólicas son suficientes como para que se produzca la brotación. Por debajo de los 5 °C, la tasa respiratoria y el crecimiento del brote se ven reducidos en la mayoría de los tejidos, pero la degradación del almidón y su conversión en sacarosa confiere a los tubérculos un dulzor indeseado. Por ello, las patatas son almacenadas a temperaturas entre los 7 °C y los 9 °C, lo cual evita la degradación del almidón a sacarosa, pero minimiza la respiración y la brotación.

Concentración de CO_2. Una práctica común durante el almacenamiento de los frutos se basa en aprovechar las ventajas de los efectos del oxígeno atmosférico y la temperatura sobre la respiración, y es frecuente mantener los frutos a baja temperatura con un 2-3 % de O_2 y 3-5 % de CO_2. Las bajas temperaturas reducen la tasa respiratoria igual que ocurre cuando hay una disminución del aporte de oxígeno. Se utilizan bajos niveles de oxígeno, en lugar de condiciones anóxicas, para evitar reducir las tensiones de oxígeno de los tejidos hasta el punto que se estimula el metabolismo fermentativo.

El dióxido de carbono tiene un efecto inhibidor limitado sobre la tasa respiratoria cuando se encuentra entre un 3 y un 5 %, porcentaje muy superior al 0,036 % (360 ppm) que normalmente hay en la atmósfera. La concentración de CO_2 atmosférico está aumentando rápidamente como consecuencia de las actividades humanas y está previsto que se duplique, hasta los 700 ppm, antes de que finalice el siglo XXI (véase el capítulo 9).

Al comparar la tasa respiratoria de plantas que han crecido a unos 350 ppm de CO_2 con la de otras que han crecido a 700 ppm de CO_2 se ha encontrado que, en oscuridad, las primeras tienen una tasa respiratoria (expresada como peso seco) entre un 15 y un 20 % menor (Drake y col. 1999), aunque este resultado ha sido cuestionado (Jahnke 2001; Bruhn y col. 2002). El número de mitocondrias por unidad de área celular se duplica con una concentración alta de CO_2 ambiental. Estos datos implican que la actividad respiratoria en presencia de luz incluso puede aumentar a concentraciones de CO_2 más altas (Griffin y col. 2001). Así, una cuestión que actualmente está siendo estudiada es cómo contribuirán las plantas al ciclo global del carbono si crecen a concentraciones altas de CO_2.

EL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

Mientras que los animales utilizan las grasas para almacenar energía, las plantas las emplean principalmente como reserva de carbono. Muchas semillas almacenan carbono reducido en forma de grasas y aceites. Entre ellas están algunas especies im-

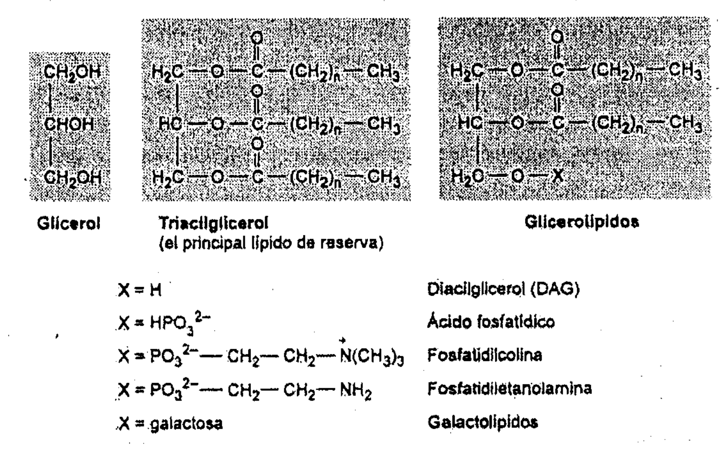


Figura 11.14 Características estructurales de los triacilgliceroles y lípidos anfipáticos en plantas superiores. Las longitudes de las cadenas de carbono (siempre son un número de carbonos par) son del orden 12 a 20, aunque normalmente son 16 ó 18. Así, el valor de *n* normalmente es 14 ó 16.

portantes, desde el punto de vista agronómico, como son la soja, el girasol, el cacahuete y el algodón. Con frecuencia, los aceites tienen una función de reserva en plantas no domésticas que producen pequeñas semillas. Algunas frutas como el aguacate y las aceitunas también almacenan grasas y aceites.

En esta parte final del capítulo describiremos la biosíntesis de los dos principales tipos de glicerolípidos: los *triacilgliceroles* (las grasas y aceites almacenados en las semillas) y los *glicerolípidos polares* (que forman la bicapa lipídica de las membranas celulares) (Figura 11.14). Veremos que la biosíntesis de triacilgliceroles y glicerolípidos polares requiere la acción coordinada de dos orgánulos: los plastos y el retículo endoplásmico. Las plantas también pueden emplear grasas y aceites para obtener energía. Examinaremos el complejo proceso por el que las semillas obtienen la energía metabólica de la oxidación de grasas y aceites durante la germinación.

Las grasas y los aceites almacenan grandes cantidades de energía

Las grasas y los aceites pertenecen a la familia de los *lípidos*, un grupo de compuestos hidrófobos, estructuralmente diversos, que son solubles en disolventes orgánicos y altamente insolubles en agua. Representan una forma de carbono más reducida que los carbohidratos, por eso la oxidación completa de 1 gramo de aceite o grasa (que contiene unos 40 kJ ó 9,3 kcal) puede producir más ATP que la oxidación de 1 gramo de almidón (sobre 15,9 kJ ó 3,8 kcal). Por el contrario, la biosíntesis de grasas, aceites y moléculas relacionadas (como los fosfolípidos de membrana) necesita una gran inversión del metabolismo energético.

Existen otros lípidos que son importantes para la estructura y función de la planta, pero que no se emplean como reserva de energía. Entre estos lípidos están las ceras, que crean una cutícula protectora que reduce las pérdidas de agua de los tejidos vegetales expuestos al exterior, y los terpenoides (conocidos también como isoprenoides) entre los que se incluyen los carotenoides (implicados en la fotosíntesis) y los esteroles (presentes en muchas membranas vegetales) (véase el capítulo 13).

Los triacilgliceroles se almacenan en oleosomas

Las grasas y los aceites se encuentran principalmente en forma de triacilgliceroles (*acil* se refiere a la parte derivada del ácido graso) o triglicéridos, en los que las moléculas de ácidos grasos están unidas por enlaces éster a los tres grupos hidroxilos del glicerol (véase la figura 11.14).

Los ácidos grasos en las plantas suelen ser cadenas lineales de ácidos carboxílicos que contienen un número constante de átomos de carbono. La longitud de la ca-

Tabla 11.3
Ácidos grasos comunes en tejidos de plantas superiores

Nombre[a]	Estructura
Ácidos grasos saturados	
Ácido laúrico (12:0)	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
Ácido mirístico (14:0)	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
Ácido palmítico (16:0)	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
Ácido esteárico (18:0)	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
Ácidos grasos insaturados	
Ácido oleico (18:1)	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$
Ácido linoleico (18:2)	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH(CH_2)_7COOH$
Ácido linolénico (18:3)	$CH_3CH_2CH{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)_7COOH$

[a]Cada ácido graso tiene una abreviación numérica. El número antes de los dos puntos representa el número total de carbonos, mientras que el número después de los dos puntos indica el número de dobles enlaces que posee.

dena de carbono puede ser de ente 12 y 20 carbonos, aunque las más frecuentes son cadenas de 16 y 18 carbonos de longitud. Los *aceites* son líquidos a temperatura ambiente debido a la presencia de enlaces insaturados en los ácidos grasos, mientras que las *grasas* son sólidas a temperatura ambiente por la presencia de una mayor proporción de ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos más comunes en las plantas se muestran en la tabla 11.3.

La composición de ácidos grasos en los lípidos vegetales varía mucho de una especie a otra. Por ejemplo, el aceite de cacahuete contiene un 9 % de ácido palmítico, un 59 % de ácido oleico y un 21 % de ácido linoléico, mientras que el aceite de semilla de algodón contiene un 20 % de ácido palmítico, un 30 % de ácido oleico y un 45 % de ácido linoleico. Analizaremos brevemente la biosíntesis de estos ácidos grasos.

En la mayoría de las semillas, los triacilgliceroles son almacenados en el citoplasma bien del cotiledón, bien de las células del endospermo, en un orgánulo llamado **oleosoma** (también llamado *esferosoma* o *cuerpo lipídico*) (véase el capítulo 1). Los oleosomas tienen una membrana inusual formada por una sola capa de fosfolípidos para separar los triglicéridos del citoplasma acuoso. Una única capa de fosfolípidos (media bicapa) rodea el cuerpo lipídico, con las terminaciones hidrofílicas de los fosfolípidos de cara al citoplasma y las cadenas acilo hidrofóbicas de cara al interior del triacilglicerol (véase el capítulo 1). El oleosoma está estabilizado por unas proteínas específicas, llamadas *oleosinas*, que cubren la superficie y evitan que los fosfolípidos de cuerpos lipídicos adyacentes entren en contacto y se fusionen.

La estructura única de la membrana de los oleosomas parece ser el resultado del patrón de biosíntesis de los triacilgliceroles. La síntesis de triacilgliceroles es completada por enzimas localizados en el retículo endoplásmico y las grasas resultantes se acumulan entre las dos monocapas de la bicapa del RE. Esta bicapa se hincha a

medida que las grasas son introducidas en la estructura creciente y, finalmente, sale del RE un cuerpo lipídico maduro (Napier y col. 1996).

Los glicerolípidos polares son los principales lípidos estructurales de las membranas

Como subrayamos en el capítulo 1, cada membrana celular es una bicapa de lípidos *anfipáticos* (que tienen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas) en las que un grupo de cabeza polar interacciona con la fase acuosa, mientras que las cadenas hidrofóbicas de ácidos grasos forman el centro de la membrana. Esta región hidrofóbica evita la difusión al azar de los solutos a través de los compartimentos celulares y permite organizar la bioquímica de la célula.

La principal estructura de los lípidos en las membranas es la de glicerolípidos polares (véase la figura 11.14), en los que la parte hidrofóbica consta de cadenas de ácidos grasos de 16 a 18 carbonos esterificadas a las posiciones 1 y 2 de un glicerol. El grupo polar de la cabeza está anclado a la posición 3 del glicerol. Existen dos categorías de glicerolípidos polares:

1. Los **gliceroglicolípidos**, en los que los azúcares forman el grupo de cabeza (Figura 11.15A)
2. Los **glicerofosfolípidos**, en los que el grupo de cabeza contiene un fosfato (Figura 11.15B).

Las membranas vegetales tienen lípidos estructurales adicionales como esfingolípidos y esteroles (véase el capítulo 13), pero son componentes minoritarios. Hay otros lípidos que tienen funciones específicas en la fotosíntesis y en otros procesos; entre estos lípidos están las clorofilas, las plastoquinonas, los carotenoides y los tocoferoles, que constituyen un tercio de los lípidos de las hojas de la planta.

Tabla 11.4
Componentes glicerolípidos de las membranas celulares

	Composición lipídica (porcentaje del total)		
	Cloroplasto	Retículo endoplásmico	Mitocondria
Fosfatidilcolina	4	47	43
Fosfatidiletanolamina	-	34	35
Fosfatidilinositol	1	17	6
Fosfatidilglicerol	7	2	3
Difosfatidilglicerol	-	-	13
Monogalactosildiacilglicerol	55	-	-
Digalactosidiacilglicerol	24	-	-
Sulfolípido	8	-	-

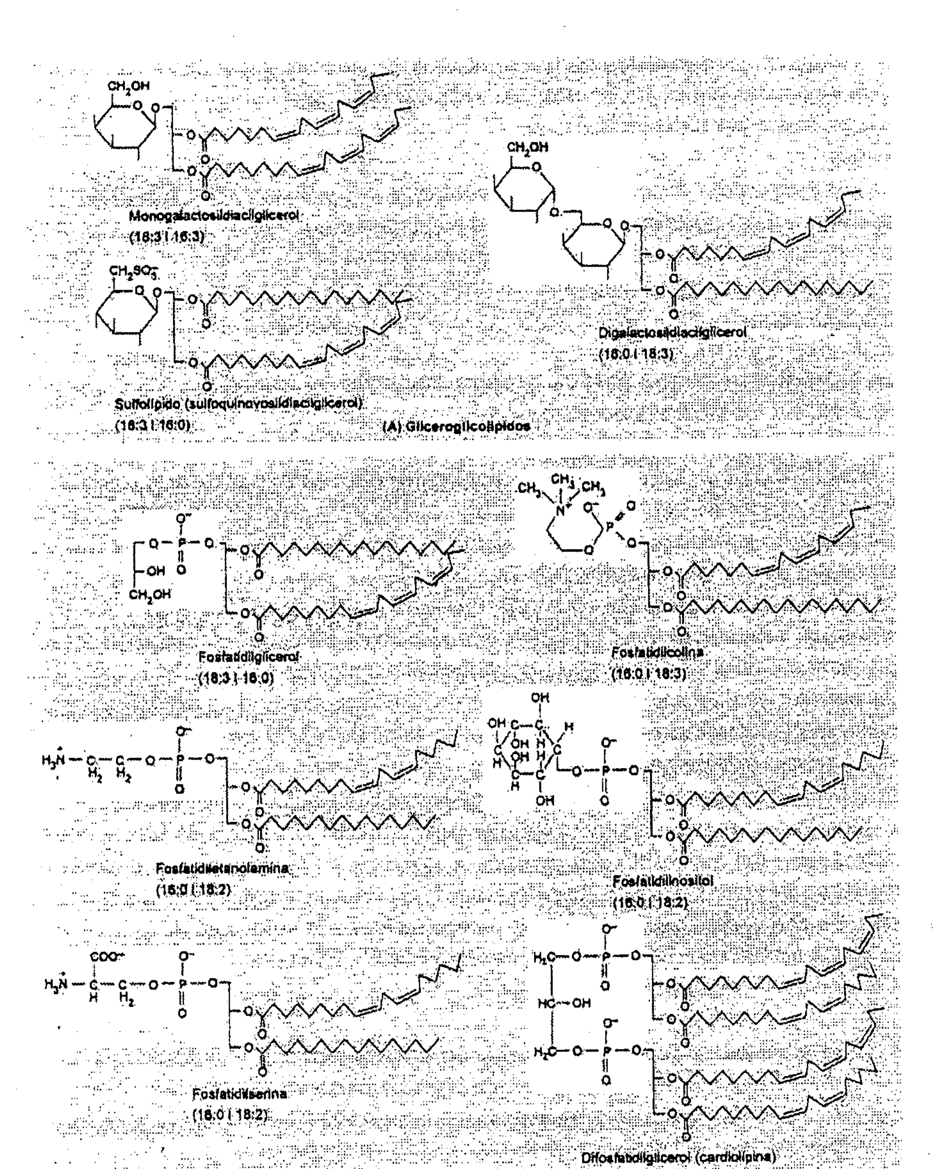


Figura 11.15 Principales lípidos de membrana de plantas. (A) Gliceroglicolípidos y (B) glicerofosfolípidos. Al glicerol se pueden anclar al menos seis ácidos grasos diferentes. Para cada tipo de lípido se muestra una de las especies más comunes. Los números debajo de cada nombre se refieren al número de carbonos (número antes de los dos puntos) y el número de dobles enlaces (después de los dos puntos).

La figura 11.15 muestra las nueve clases principales de glicerolípidos en plantas, cada una de las cuales puede estar asociada con diferentes combinaciones de ácidos grasos. Las estructuras de la figura 11.15 ilustran algunas de las moléculas más comunes.

Las membranas de los cloroplastos contienen un 70 % de los lípidos de membrana de los tejidos fotosintéticos, predominando los gliceroglicolípidos; otras membranas de la célula contienen glicerofosfolípidos (Tabla 11.4). En los tejidos no fotosintéticos, los fosfolípidos son los principales glicerolípidos de la membrana.

La biosíntesis de los ácidos grasos consiste en ciclos de adición de dos carbonos

La biosíntesis de los ácidos grasos implica la condensación cíclica de unidades de dos carbonos en los que el acetil coenzima A es el precursor. En las plantas, los ácidos grasos se sintetizan en los plastos; en los animales, la biosíntesis de ácidos grasos tiene lugar principalmente en el citosol.

Se cree que los enzimas de la ruta se mantienen juntos en un complejo que se conoce en conjunto como *ácido graso sintasa*. Probablemente el complejo permite que las reacciones en serie ocurran más eficientemente que si los enzimas estuvieran físicamente separados unos de otros. Además, la cadena del ácido graso creciente permanece covalentemente unida a una proteína ácida de baja masa molecular conocida como **proteína transportadora de acilo (ACP)**. Cuando el ácido graso se encuentra conjugado a la proteína transportadora de acilo se denomina **acil-ACP**.

La primera etapa de la ruta (el primer paso único de la síntesis de ácidos grasos) es la síntesis del malonil CoA a partir del acetil CoA y CO_2, reacción catalizada por el enzima acetil CoA carboxilasa (Figura 11.16) (Sasaki y col. 1995). La fuerte regulación de la acetil CoA carboxilasa parece controlar la velocidad de toda la síntesis de los ácidos grasos (Ohlrogge y Jaworski 1997). El malonil CoA reacciona con la ACP para generar el malonil-ACP.

1. En el primer ciclo de la síntesis de un ácido graso, el grupo acetato del acetil CoA se transfiere a una cisteína específica del *enzima condensador* (3-cetoacil-ACP sintasa) y se combina entonces con el malonil-ACP para formar acetoacetil-ACP.
2. A continuación se elimina (se reduce) el grupo cetona del carbono 3 por la acción de tres enzimas para formar una nueva cadena de acilo (butiril-ACP) que tiene ahora cuatro carbonos de longitud (véase la figura 11.16).
3. El ácido de cuatro carbonos y otra molécula de malonil-ACP son los nuevos sustratos para el enzima condensador, lo que da lugar a la adición de dos unidades de carbono y alarga la cadena. El ciclo continúa hasta que se añaden unos 16 ó 18 carbonos.
4. Algunos 16:0-ACP se liberan de la maquinaria de la ácido graso sintasa, pero la mayoría de las moléculas son alargadas hasta formar un 18:0-ACP y convertidas en un 18:1-ACP por un enzima desaturasa. La repetición de esta secuencia de reacciones hace que los principales productos de la síntesis de ácidos grasos en los plastos sean los 16:0-ACP y los 18:1-ACP (Figura 11.17).

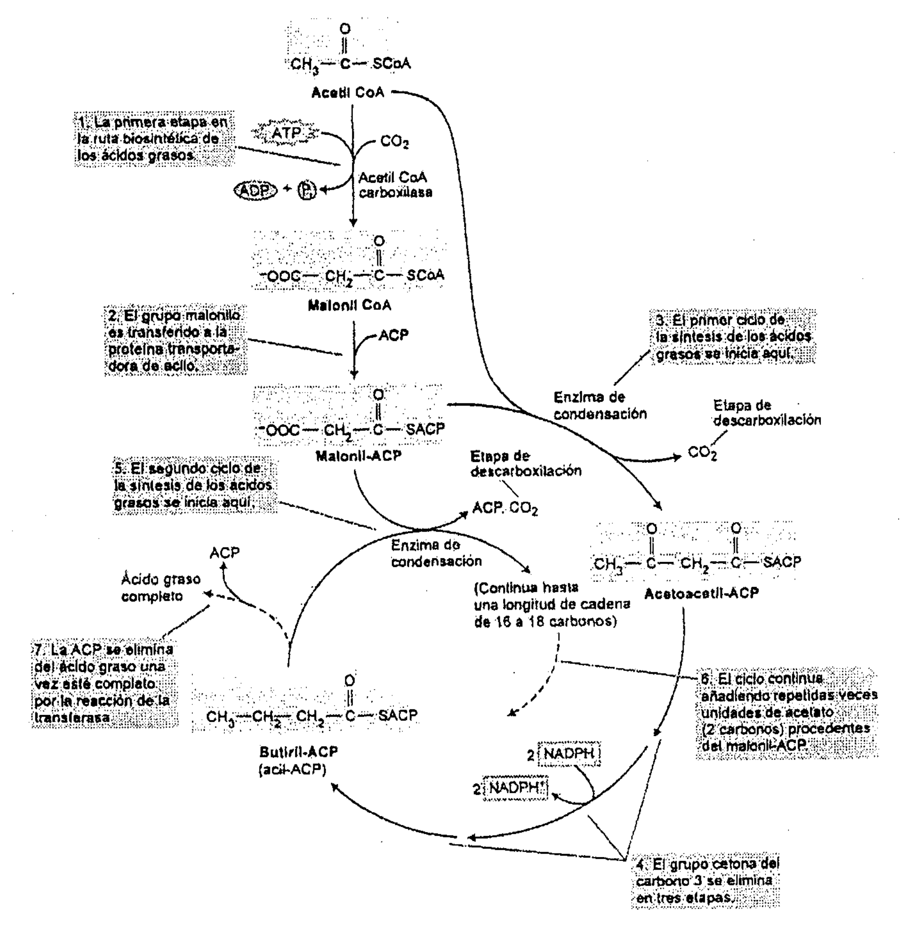


Figura 11.16 Ciclo de síntesis de los ácidos grasos en plastos de plantas superiores.

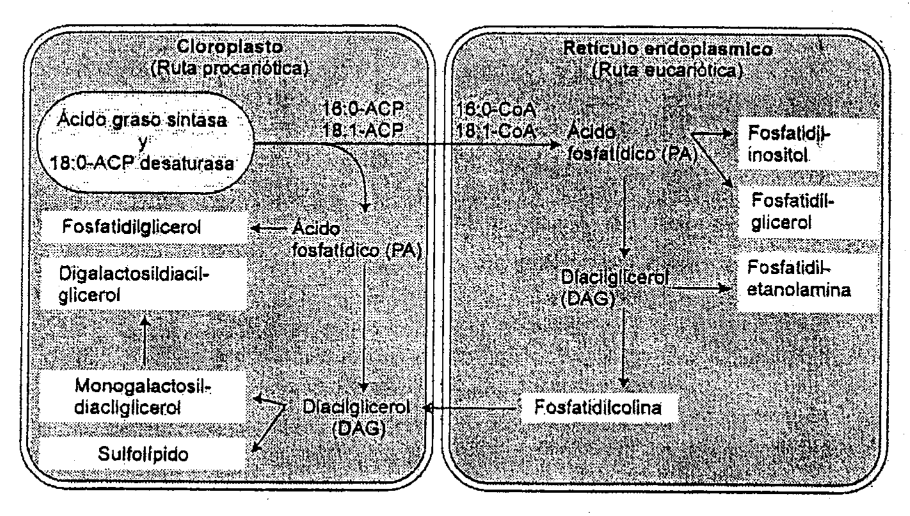


Figura 11.17 Las dos rutas de síntesis de los glicerolípidos en el cloroplasto y en el retículo endoplásmico de células de hoja de *Arabidopsis*. Los principales componentes de la membrana están en recuadros. Los glicerolípidos insaturados en el cloroplasto y los enzimas del retículo endoplásmico convierten los ácidos grasos 16:0 y 18:1 en ácidos grasos más insaturados, tal y como se muestra en la figura 11.15.

Después de que los ácidos grasos se han unido al glicerol para formar los glicerolípidos, pueden sufrir modificaciones posteriores. Se añaden otros dobles enlaces adicionales por acción de una serie de isozimas desaturasas. Los isozimas desaturasas son proteínas integrales de membrana que se encuentran en el cloroplasto y en el retículo endoplásmico (RE). Cada desaturasa inserta un doble enlace en una posición específica de la cadena de los ácidos grasos, y actúan secuencialmente para generar los productos finales 18:3 y 16:3 (Ohlrogge y Browse 1995).

Los glicerolípidos son sintetizados en los plastos y en el retículo endoplásmico

Los ácidos grasos sintetizados en el plasto son utilizados para formar glicerolípidos de membrana y oleosomas. Las primeras etapas de la síntesis de los glicerolípidos son dos reacciones de acilación que transfieren los ácidos grasos del acil-ACP o acil-CoA al glicerol-3-fosfato para formar el **ácido fosfatídico**.

A partir del ácido fosfatídico, la actividad de una fosfatasa específica produce el **diacilglicerol (DAG)**. El ácido fosfatídico también se puede convertir directamente en fosfatidilinositol o en fosfatidilglicerol; el DAG puede dar fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina (véase la figura 11.17).

La localización de los enzimas de síntesis de glicerolípidos revela una interacción compleja y muy regulada entre el cloroplasto (donde son sintetizados los ácidos grasos) y otros sistemas de membranas de la célula. De forma simplificada, la bioquímica implica dos rutas conocidas como *procariótica* (o del cloroplasto) y *eucariótica* (o del RE).

1. En los cloroplastos, la **ruta procariótica** utiliza los productos 16:0-ACP y 18:1-ACP de la síntesis de los ácidos grasos en los cloroplastos para sintetizar ácido fosfatídico y sus derivados. Alternativamente, los ácidos grasos pueden ser exportados al citosol como ésteres de CoA.
2. En el citoplasma, la **ruta eucariótica** utiliza un conjunto separado de aciltransferasas del RE para incorporar los ácidos grasos al ácido fosfatídico y sus derivados.

En la figura 11.17 se muestra una versión simplificada de este modelo.

En algunas plantas superiores, incluidas *Arabidopsis* y espinaca, las dos rutas contribuyen por igual a la síntesis de lípidos en el cloroplasto. No obstante, en la mayoría de las angiospermas el fosfatidilglicerol es el único producto de la ruta procariótica y el resto de los lípidos del cloroplasto son todos sintetizados por la ruta eucariótica.

La bioquímica de la síntesis de triacilgliceroles en semillas oleaginosas es generalmente el mismo que hemos descrito para los glicerolípidos. Los 16:0 y 18:1-ACP son sintetizados en los plastos y después exportados como tioésteres de CoA para su incorporación al DAG en el retículo endoplásmico (véase la figura 11.17).

Los enzimas claves del metabolismo de las semillas oleaginosas (no se muestran en la figura 11.17) son acil-CoA:DAG-aciltransferasa y PC:DAG-aciltransferasa, que catalizan la síntesis del triacilglicerol (Dahlqvist y col. 2000). Como destacamos anteriormente, las moléculas de triacilgliceroles se acumulan en unas estructuras subcelulares, los oleosomas, a partir de los cuales pueden ser movilizados durante la germinación para ser convertidos en azúcares.

La composición lipídica influye en la función de la membrana

Una cuestión central en la biología de la membrana es la razón funcional de esta diversidad lipídica. Cada sistema de membrana de la célula tiene una composición característica y distinta de lípidos, y en una única membrana cada clase de lípidos tiene una composición de ácidos grasos distinta. Nuestro conocimiento sobre la membrana manifiesta que los lípidos se organizan para formar una bicapa fluida y permeable que es la matriz para las proteínas funcionales de membrana.

La función de la masa lipídica podría ser llevada a cabo por una única especie insaturada de fosfatidilcolina, pero es obvio que un modelo tan simple no es satisfactorio. ¿Para qué es necesaria esta diversidad lipídica? Un aspecto de la biología de la membrana que podría ofrecer una respuesta a esta cuestión es la relación entre la composición lipídica y la capacidad de los organismos de adaptarse a los cambios de temperatura (Wolter y col. 1992). Por ejemplo, las plantas sensibles a la congelación experimentan una reducción muy acusada de la velocidad de crecimiento y del desarrollo a temperaturas entre 0 y 12 °C (véase el capítulo 25). Muchos cultivos económicamente importantes, como el algodón, la soja, el maíz, el arroz y muchos frutos tropicales y subtropicales son sensibles a la congelación. Por el contrario, la mayoría de las plantas originarias de las regiones templadas son capaces de crecer y desarrollarse a temperaturas de congelación y se las conoce como resistentes al frío.

Se ha sugerido que, puesto que a temperaturas bajas se produce un descenso de la fluidez lipídica, el primer acontecimiento del daño por frío sea una transición de la fase líquido-cristalina a la fase gel en las membranas celulares. De acuerdo con esta propuesta, esta transición provocaría alteraciones en el metabolismo de las células congeladas y daños e incluso la muerte en las plantas sensibles al frío. El grado de insaturación de los ácidos grasos podría determinar la temperatura a la cual pueden ocurrir estos daños.

Sin embargo, estudios recientes sugieren que las relaciones entre las insaturaciones de la membrana y las respuestas a la temperatura son más sutiles y complejas (véase el **tema web 11.8**). Las respuestas de mutantes de *Arabidopsis* que se encuentran a bajas temperaturas y que presentan altas concentraciones de ácidos grasos saturados parecen ser bastante diferentes de las que se predice en la hipótesis de la sensibilidad a la congelación. Esto sugiere que el daño por congelación no puede estar estrictamente relacionado con el grado de insaturación de los lípidos de la membrana.

Por otro lado, los experimentos con plantas transgénicas de tabaco que son sensibles a la congelación muestran resultados opuestos. En tabaco transgénico, la expresión de genes exógenos se ha utilizado específicamente para reducir el nivel de fosfatidilglicerol saturado o para provocar un aumento general de la instauración en la membrana. En cada caso el daño por congelación se redujo en cierta medida.

Estos nuevos descubrimientos dejan claro que la extensión de la instauración de la membrana o la presencia de lípidos particulares, como fosfatidilglicerol disaturado, pueden afectar a las respuestas de las plantas a bajas temperaturas. Como se analiza en el **tema web 11.8**, son necesarios más estudios para comprender completamente las relaciones que existen entre la composición lipídica y la función de la membrana.

Los lípidos de membrana son precursores de importantes compuestos señal

Todos los organismos, plantas, animales y microbios, utilizan lípidos de membrana como precursores de los compuestos utilizados en la señalización intracelular o a larga distancia. Por ejemplo, el jasmonato, derivado del ácido linoleico (18:3), activa las defensas vegetales frente al ataque por insectos y otros hongos patógenos. Además, el jasmonato regula otros aspectos del crecimiento vegetal, como el desarrollo de las anteras y el polen (Stintzi y Browse 2000). El **fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2)** es el más importante de todos los compuestos fosforilados derivados del fosfatidilinositol, conocidos con el nombre genérico de *fosfoinositólidos*. En animales, la activación mediada por receptor de la fosfolipasa C hidroliza el PIP_2 a trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol, que actúa como segundo mensajero intracelular.

Se ha demostrado en varios sistemas vegetales, incluidas las células guarda estomáticas, la acción del IP_3 en la liberación de Ca^{2+} al citoplasma (a través de los canales sensibles al calcio en el tonoplasto y otras membranas) y, por tanto, la regulación celular de estos procesos (Schroeder y col. 2001). A través de estudios bioquímicos y de genética molecular de las fosfolipasas (Wang 2001) y otros enzimas implicados en la generación de estas señales se está obteniendo información sobre otros tipos de señalización lipídica.

Los lípidos de reserva son convertidos en carbohidratos durante la germinación de las semillas

Después de la germinación, las semillas que contienen aceites metabolizan los triacilgliceroles almacenados para convertirlos en sacarosa. Las plantas no son capaces de transportar grasas desde el endospermo a las raíces y los brotes de las plántulas durante la germinación, de manera que los lípidos almacenados deben ser convertidos en una forma de carbono que sea móvil en la planta, generalmente sacarosa. Este proceso implica varias etapas localizadas en diferentes compartimentos celulares: oleosomas, glioxisomas, mitocondrias y citosol.

Visión general: de lípidos a sacarosa. La conversión de lípidos en sacarosa en semillas oleaginosas es desencadenado por la germinación y empieza con la hidrólisis de los triglicéridos, almacenados en los cuerpos lipídicos, a ácidos grasos libres, seguida de la oxidación de los ácidos grasos libres para producir acetil CoA (Figura 11.18). Los ácidos grasos son oxidados en un tipo particular de peroxisoma denominado **glioxisoma**, orgánulo limitado por una única membrana que se encuentra en el tejido que almacena aceites en las semillas. El acetil CoA es metabolizado en el

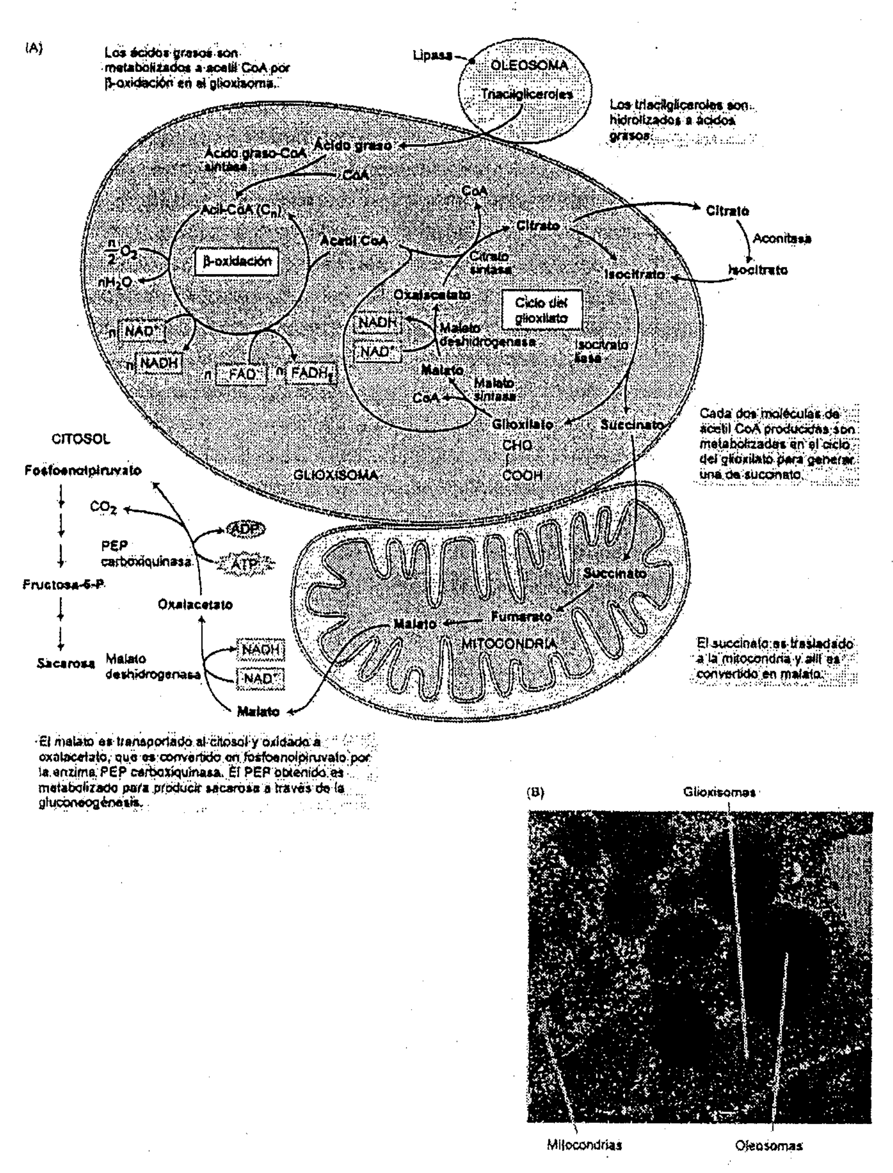


Figura 11.18 Conversión de grasas en azúcares durante la germinación de semillas que almacenan aceite. (A) Flujo de carbono durante la degradación de ácidos grasos y gluconeogénesis (para más detalle de las estructuras, consúltense las figuras 11.12, 11.13 y 11.16). (B) Micrografía electrónica de una célula de cotiledón que almacena aceite de una plántula de pepino, donde se muestran glioxisomas, mitocondrias y oleosomas. (Foto gentileza de N. Trelease.)

glioxisoma (véase la figura 11.18A) para producir succinato, que es transportado desde el glioxisoma a la mitocondria, donde es posteriormente convertido primero en oxalacetato y a continuación en malato. Este proceso termina en el citosol con la conversión de malato en glucosa a través de la gluconeogénesis y después la glucosa es convertida en sacarosa.

Aunque parte de este carbono derivado del ácido graso es desviado a otras reacciones metabólicas, en semillas oleoginosas, como el ricino (*Ricinus communis*), el proceso es tan eficiente que cada gramo de lípido metabolizado produce 1 gramo de carbohidratos, que es equivalente a la recuperación del 40 % de energía libre en forma de enlaces de carbono ([15,9 kJ/40 kJ] × 100 = 40 %).

Hidrólisis de la lipasa. El paso inicial de la conversión de lípidos a carbohidratos es la degradación de los triglicéridos almacenados en los cuerpos lipídicos por el enzima lipasa, que, al menos en el endospermo de ricino, está localizada en la semimembrana que actúa como membrana externa del cuerpo lipídico. La lipasa hidroliza los triacilgliceroles a tres moléculas de ácidos grasos y una de glicerol. En maíz y algodón también existe una actividad lipasa en el cuerpo lipídico, pero en cacahuete, soja y pepino la actividad lipasa se localiza en el glioxisoma. Generalmente, durante la degradación de los lípidos, los cuerpos lipídicos y los glioxisomas están estrechamente asociados (véase la figura 11.18B).

β-Oxidación de los ácidos grasos. Tras la hidrólisis de los triacilgliceroles, los ácidos grasos resultantes entran en el glioxisoma, donde son activados a acil-CoA por el enzima ácido acil-CoA sintasa. El acil-CoA es el sustrato inicial para la serie de reacciones de la β-oxidación en las que ácidos grasos C_n (ácidos grasos con *n* átomos de carbono) se degradan secuencialmente a *n*/2 moléculas de acetil CoA (véase la figura 11.18A). Esta secuencia de reacciones implica la reducción de 1/2 molécula de O_2 a H_2O y la formación de 1 NADH y 1 $FADH_2$ por cada acetil CoA producido.

En tejidos de mamíferos, las cuatro actividades enzimáticas asociadas con la β-oxidación están presentes en la mitocondria; en los tejidos de reserva de las semillas vegetales están exclusivamente localizadas en el glioxisoma. Es interesante destacar que, en los tejidos vegetativos (por ejemplo, en el hipocótilo de la judía o el tubérculo de la patata), las reacciones de la β-oxidación están localizadas en un orgánulo relacionado, el peroxisoma (véase el capítulo 1).

El ciclo del glioxilato. La función del ciclo del glioxilato es convertir dos moléculas de acetil CoA en una de succinato. El acetil coenzima A producido por β-oxidación es posteriormente metabolizado en los glioxisomas a través de una serie de reacciones que constituyen el ciclo del glioxilato (véase la figura 11.18B). Inicialmente, el acetil coenzima A reacciona con el oxalacetato para dar citrato, que es transferido

al citoplasma para su isomerización a isocitrato por la aconitasa. El isocitrato es reimportado al peroxisoma y convertido en malato por dos reacciones que son únicas de la ruta del glioxilato.

1. Primero se rompe el isocitrato (C_6) por el enzima isocitrato liasa, para dar succinato (C_4) y glioxilato (C_2). Este succinato es exportado a la mitocondria.
2. A continuación, la malato sintasa combina una segunda molécula de acetil CoA con glioxilato para producir malato.

El malato es entonces oxidado por la malato deshidrogenasa a oxalacetato, que puede combinarse con otro acetil CoA para continuar el ciclo (véase la figura 11.18A). El glioxilato producido se mantiene en el ciclo operante en el glioxisoma, pero el succinato es exportado a la mitocondria para ser procesado.

La función mitocondrial. El succinato transportado desde el glioxisoma a la mitocondria es convertido en malato por las reacciones del ciclo del ácido cítrico. El malato resultante puede ser exportado al exterior de la mitocondria en un intercambio por succinato mediante el transportador de dicarboxilato, localizado en la membrana interna mitocondrial. El malato es entonces oxidado a oxalacetato por la malato deshidrogenasa citosólica y el oxalacetato resultante es convertido en carbohidrato.

Esta conversión necesita la reacción irreversible de la piruvato quinasa (véase la figura 11.3) y está facilitada por el enzima PEP carboxiquinasa, que utiliza la capacidad fosforilante del ATP para convertir el oxalacetato en PEP y CO_2 (véase la figura 11.18). Desde el PEP se puede producir glucosa por gluconeogénesis, como se ha descrito anteriormente. La sacarosa es el último producto de este proceso, y constituye la forma principal en la que el carbono reducido es transportado desde los cotiledones a los tejidos en crecimiento de las plántulas. No todas las semillas convierten cuantitativamente grasa en azúcar (véase el **tema web 11.9**).

RESUMEN

En la respiración vegetal, el carbono celular reducido generado durante la fotosíntesis es oxidado a CO_2 y agua y esta oxidación está acoplada a la síntesis de ATP. La respiración se produce en tres etapas: glicólisis, ciclo del ácido cítrico y fosforilación oxidativa. La última etapa comprende la cadena de transporte electrónico y la síntesis de ATP.

En la glicólisis, el carbohidrato es convertido en el citosol a piruvato con la síntesis de pequeñas cantidades de ATP por fosforilación a nivel de sustrato. A continuación, el piruvato es oxidado en la matriz mitocondrial en el ciclo del ácido cítrico, generando un gran número de equivalentes reductores en forma de NADH y $FADH_2$.

En la tercera etapa, la fosforilación oxidativa, los electrones del NADH y el $FADH_2$ pasan a través de la cadena de transporte electrónico para reducir el oxígeno. La energía libre se conserva como un gradiente electroquímico de protones, que se crea por acoplamiento del flujo de electrones al bombeo de protones desde la matriz al espacio intermembranoso. Esta energía es convertida en energía química en forma de ATP por la F_0F_1 ATP sintasa, también localizada en la membrana interna mitocondrial, que acopla la síntesis de ATP, a partir de ADP y P_i, al flujo de protones que entran en la matriz a favor de su gradiente electroquímico.

La respiración aeróbica en las plantas superiores tiene varias características únicas como son la presencia de una ruta oxidasa alternativa resistente al cianuro y de múltiples NAD(P)H deshidrogenasas que bombean protones. La oxidación del sustrato durante la respiración está regulada en diversos puntos de la glicólisis, el ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte electrónico, pero en último término la oxidación del sustrato está controlada por los niveles de ADP. Los carbohidratos también pueden ser oxidados a través de la ruta de las pentosas fosfato, en la que el poder reductor se genera en forma de NADPH, que tiene diversos objetivos biosintéticos. Los numerosos intermediarios de la glicólisis y del ciclo del ácido cítrico proporcionan el material de partida de numerosas rutas biosintéticas.

Una planta puede utilizar más del 50 % del rendimiento fotosintético diario para la respiración, pero la tasa respiratoria que se observa en una planta entera está afectada por muchos factores; entre ellos, la naturaleza y edad del tejido y factores ambientales como la luz, la concentración de oxígeno, la temperatura y la concentración de CO_2. Dado que la tasa respiratoria contribuye a mantener el equilibrio neto de carbono de una planta, cualquier variación en la tasa respiratoria podría afectar al rendimiento agronómico.

Los lípidos juegan un papel fundamental en las plantas superiores; los lípidos anfipáticos actúan como componentes primarios no proteicos de las membranas vegetales; las grasas y los aceites son formas eficientes de almacenar el carbono en forma reducida, sobre todo, en semillas. Los glicerolípidos juegan un papel importante como componentes estructurales de las membranas. Los ácidos grasos son sintetizados en los plastos utilizando acetil CoA y pueden ser transportados al RE, donde sufrirán modificaciones posteriores.

La función de la membrana puede verse afectada por la composición lipídica. El grado de instauración de los ácidos grasos influye en la sensibilidad de las plantas al frío, pero no parece estar implicado en el daño por congelación. Por otro lado, ciertos productos derivados de la degradación de lípidos de membrana, como el ácido jasmónico, parecen actuar como agentes señalizadores en las células vegetales.

Los triglicéridos se sintetizan en el retículo endoplásmico y se acumulan en la bicapa de fosfolípidos, para formar los cuerpos lipídicos. Durante la germinación de las semillas que almacenan aceites, los lípidos almacenados son metabolizados a car-

bohidratos en una serie de reacciones que implican una secuencia metabólica conocida como ciclo del glioxilato. Este ciclo tiene lugar en los glioxisomas y las etapas posteriores se llevan a cabo en las mitocondrias. El carbono reducido generado durante la degradación de los lípidos en los glioxisomas se convierte, finalmente, en carbohidratos en el citosol por gluconeogénesis.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

11.1 Aislamiento de mitocondrias
Se han desarrollado diversos métodos para el aislamiento de mitocondrias intactas y funcionales

11.2 La cadena de transporte electrónico de las mitocondrias vegetales contiene múltiples NAD(P)H deshidrogenasas
Las NAD(P)H deshidrogenasas oxidan al NADH o NADPH y transfieren los electrones a la ubiquinona.

11.3 La oxidasa alternativa
La oxidasa alternativa es una oxidorreductasa localizada en la membrana interna mitocondrial.

11.4 F_oF_1 ATP sintasas: los motores rotantes más pequeños del mundo
La rotación de la subunidad g implica cambios conformacionales que permiten liberar el ATP del enzima.

11.5 El transporte hacia el interior y el exterior de la mitocondria vegetal
La mitocondria vegetal posee diferentes mecanismos de transporte.

11.6 El sistema genético de la mitocondria vegetal tiene algunas características especiales
El genoma mitocondrial codifica unas 40 proteínas mitocondriales.

11.7 ¿La respiración reduce el rendimiento del cultivo?
Se han establecido las relaciones empíricas entre la tasa respiratoria vegetal y el rendimiento de los cultivos.

11.8 La composición de lípidos de las membranas afecta a la biología celular y a la fisiología de las plantas
Los mutantes con deficiencias lipídicas están ampliando nuestro conocimiento sobre la capacidad de los organismos para adaptarse a los cambios de temperatura.

11.9 Utilización de las reservas de aceite en los cotiledones
En algunas especies, sólo una parte de los lípidos almacenados en los cotiledones son exportados como carbohidratos.

ENSAYOS WEB

11.1 La versatilidad metabólica ayuda a las plantas a sobrevivir
La capacidad de las plantas para llevar a cabo una etapa metabólica de diferentes formas aumenta la supervivencia vegetal en condiciones de estrés.

11.2 Perfil metabólico de las células vegetales
El perfil metabólico se complementa por genómica y proteómica.

11.3 La regulación de la temperatura en flores termogénicas
En flores termogénicas, como el lirio, la temperatura puede aumentar más de 20 °C respecto a su entorno.

11.4 Las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la mitocondria vegetal
El daño por especies reactivas del oxígeno es una consecuencia inevitable de la respiración aeróbica.

11.5 El papel de la respiración en la tolerancia a la desecación
La respiración tiene efectos positivos y negativos en la supervivencia vegetal en condiciones de estrés hídrico.

11.6 Equilibrio entre la vida y la muerte: el papel de la mitocondria en la muerte celular programada
La muerte celular programada es una parte integral del ciclo vital de las plantas en la que está directamente implicada la mitocondria.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Abrahams J. P., Leslie A. G. W., Lutter R. y Walker J. E. (1994) Structure at 2.8 Å resolution of F_1-ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 370: 621–628.

Ap Rees T. (1980) Assessment of the contributions of metabolic pathways to plant respiration. En *The Biochemistry of Plants*, Vol. 2, D. D. Davies, ed., Academic Press, New York, págs. 1–29.

Brand M. D. (1994) The stoichiometry of proton pumping and ATP synthesis in mitochondria. *Biochemist* 16(4): 20–24.

Bruhn D., Mikkelsen T. N. y Atkin O. K. (2002) Does the direct effect of atmospheric CO_2 concentration on leaf respiration vary with temperature? Responses in two species of *Plantago* that differ in relative growth rate. *Physiol. Plant.* 114: 57–64.

Budde R. J. A. y Randall D. D. (1990) Pea leaf mitochondrial pyruvate dehydrogenase complex is inactivated *in vivo* in a light-dependent manner. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 673–676.

Dahlqvist A., Stahl U., Lenman M., Banas A., Lee M., Sandager L., Ronne H. y Stymne S. (2000) Phospholipid:diacylglycerol acyltransferase: An enzyme that catalyzes the acyl-CoA-independent formation of triacylglycerol in yeast and plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 6487–6492.

Dennis D. T. y Blakely S. D. (2000) Carbohydrate metabolism. En *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem y R. Jones, eds., American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, págs. 630–674.

Dennis D. T., Huang Y. y Negm F. B. (1997) Glycolysis, the pentose phosphate pathway and anaerobic respiration. En *Plant Metabolism*, 2ª ed., D. T. Dennis, D. H. Turpin, D. D. Lefebvre y D. B. Layzell, eds., Longman, Singapore, págs. 105–123.

Douce R. (1985) *Mitochondria in Higher Plants: Structure, Function, and Biogenesis*. Academic Press, Orlando, FL.

Drake B. G., Azcon-Bieto J., Berry J., Bunce J., Dijkstra P., Farrar J., Gifford R. M., Gonzalez-Meler M. A., Koch G., Lambers H., Siedow J. y Wullschleger S. (1999) Does elevated atmospheric CO_2 concentration inhibit mitochondrial respiration in green plants? *Plant Cell Environ.* 22: 649–657.

Givan C. V. (1999) Evolving concepts in plant glycolysis: Two centuries of progress. *Biol. Rev.* 74: 277–309.

Griffin K. L., Anderson O. R., Gastrich M. D., Lewis J. D., Lin G., Schuster W., Seemann J. R., Tissue D. T., Turnbull M. H. y Whitehead D. (2001) Plant growth in elevated CO_2 alters mitochondrial number and chloroplast fine structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 2473–2478.

Gunning B. E. S. y Steer M. W. (1996) *Plant Cell Biology: Structure and Function of Plant Cells*. Jones and Bartlett, Boston.

Hoefnagel M. H. N., Atkin O. K. y Wiskich J. T. (1998) Interdependence between chloroplasts and mitochondria in the light and the dark. *Biochim. Biophys. Acta* 1366: 235–255.

Huang J., Struck F., Matzinger D. F. y Levings C. S. (1994) Flower-enhanced expression of a nuclear-encoded mitochondrial respiratory protein is associated with changes in mitochondrion number. *Plant Cell* 6: 439–448.

Jahnke S. (2001) Atmospheric CO_2 concentration does not directly affect leaf respiration in bean or poplar. *Plant Cell Environ.* 24: 1139–1151.

Krömer S. (1995) Respiration during photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 45–70.

Kruger N. J. (1997) Carbohydrate synthesis and degradation. En *Plant Metabolism*, 2ª ed., D. T. Dennis, D. H. Turpin, D. D. Lefebvre y D. B. Layzell, eds., Longman, Singapore, págs. 83–104.

Laloi M., Klein M., Riesmeier J. W., Müller-Röber B., Fleury C., Bouillaud F. y Ricquier D. (1997) A plant cold-induced uncoupling protein. *Nature* 389: 135–136.

Lambers H. (1985) Respiration in intact plants and tissues. Its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invaded organisms. En *Higher Plant Cell Respiration* (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 18), R. Douce y D. A. Day, eds., Springer, Berlin, págs. 418–473.

Leon P., Arroyo A. y Mackenzie S. (1998) Nuclear control of plastid and mitochondrial development in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 453–480.

Levings C. S., III y Siedow J. N. (1992) Molecular basis of disease susceptibility in the Texas cytoplasm of maize. *Plant Mol. Biol.* 19: 135–147.

Marienfeld J., Unseld M. y Brennicke A. (1999) The mitochondrial genome of *Arabidopsis* is composed of both native and immigrant information. *Trends Plant Sci.* 4: 495–502.

McCabe T. C., Daley D. y Whelan J. (2000) Regulatory, developmental and tissue aspects of mitochondrial biogenesis in plants. *Plant Biol.* 2: 121–135.

Møller I. M. (2001) Plant mitochondria and oxidative stress. Electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 561–591.

Møller I. M. y Rasmusson A. G. (1998) The role of NADP in the mitochondrial matrix. *Trends Plant Sci.* 3: 21–27.

Napier J. A., Stobart A. K. y Shewry P. R. (1996) The structure and biogenesis of plant oil bodies: The role of the ER membrane and the oleosin class of proteins. *Plant Mol. Biol.* 31: 945–956.

Nicholls D. G. y Ferguson S. J. (2002) *Bioenergetics 3*, 3ª ed. Academic Press, San Diego, CA.

Noctor G. y Foyer C. H. (1998) A re-evaluation of the ATP:NADPH budget during C_3 photosynthesis: A contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity? *J. Exp. Bot.* 49; 1895–1908.

Ohlrogge J. B. y Browse J. A. (1995) Lipid biosynthesis. *Plant Cell* 7: 957–970.

Ohlrogge J. B. y Jaworski J. G. (1997) Regulation of fatty acid synthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 109–136.

Oliver D. J. y McIntosh C. A. (1995) The biochemistry of the mitochondrial matrix. En *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*, C. S. Levings III e I. Vasil, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 237–280.

Plaxton W. C. (1996) The organization and regulation of plant glycolysis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 185–214.

Raskin I., Turner I. M. y Melander W. R. (1989) Regulation of heat production in the inflorescences of an *Arum* lily by endogenous salicylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2214–2218.

Sachs M. M., Subbaiah C. C. y Saab I. N. (1996) Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *J. Exp. Bot.* 47: 1–15.

Sasaki Y., Konishi T. y Nagano Y. (1995) The compartmentation of acetyl-coenzyme A carboxylase in plants. *Plant Physiol.* 108: 445–449.

Schroeder J. I., Allen G. J., Hugouvieux V., Kwak J. M. y Waner D. (2001) Guard cell signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 627–658.

Siedow J. N. (1995) Bioenergetics: The plant mitochondrial electron transfer chain. En *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*, C. S. Levings III e I. Vasil, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 281–312.

Siedow J. N. y Umbach A. L. (1995) Plant mitochondrial electron transfer and molecular biology. *Plant Cell* 7: 821–831.

Stintzi A. y Browse J. (2000) The *Arabidopsis* male-sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 10625–10630.

Thompson P., Bowsher C. G. y Tobin A. K. (1998) Heterogeneity of mitochondrial protein biogenesis during primary leaf development in barley. *Plant Physiol.* 118: 1089–1099.

Tucker G. A. (1993) Introduction. En *Biochemistry of Fruit Ripening*, G. Seymour, J. Taylor y G. Tucker, eds., Chapman & Hall, London, págs. 1–51.

Vanlerberghe G. C. y McIntosh L. (1997) Alternative oxidase: From gene to function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 703–734.

Vedel F., Lalanne É., Sabar M., Chétrit P. y De Paepe R. (1999) The mitochondrial respiratory chain and ATP synthase complexes: Composition, structure and mutational studies. *Plant Physiol. Biochem.* 37: 629–643.

Vercesi A. E., Martins I. S., Silva M. P. y Leite H. M. F. (1995) PUMPing plants. *Nature* 375: 24.

Wagner A. M. y Krab K. (1995) The alternative respiration pathway in plants: Role and regulation. *Physiol. Plant.* 95: 318–325.

Wang X. (2001) Plant phospholipases. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 211–231.

Whitehouse D. G. y Moore A. L. (1995) Regulation of oxidative phosphorylation in plant mitochondria. En *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*, C. S. Levings III e I. K. Vasil, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 313–344.

Wolter F. P., Schmidt R. y Heinz E. (1992) Chilling sensitivity of *Arabidopsis thaliana* with genetically engineered membrane lipids. *EMBO J.* 11: 4685–4692.

Capítulo 12

ASIMILACIÓN DE NUTRIENTES MINERALES

LAS PLANTAS SUPERIORES SON ORGANISMOS AUTÓTRFOS que pueden sintetizar todos sus componentes a partir de nutrientes inorgánicos obtenidos de su entorno. Para muchos nutrientes minerales esto implica la absorción desde el suelo por las raíces (véase el capítulo 5) y la incorporación a compuestos orgánicos que son esenciales para el crecimiento y el desarrollo. Esta incorporación de nutrientes minerales a sustancias orgánicas como pigmentos, cofactores de enzimas, lípidos, ácidos nucleicos y aminoácidos se conoce como **asimilación de nutrientes**.

La asimilación de algunos nutrientes, particularmente nitrógeno y azufre, necesita una serie de complejas reacciones bioquímicas, que están entre las reacciones que requieren más energía de los organismos vivos:

- En la asimilación del nitrato (NO_3^-), el nitrógeno del NO_3^- es convertido a una forma de energía más alta, el nitrito (NO_2^-), transformado posteriormente en la forma de mayor energía, el amonio (NH_4^+), y finalmente al grupo amida de la glutamina. Este proceso consume el equivalente a 12 moléculas de ATP por nitrógeno (Bloom y col. 1992).
- En plantas como las leguminosas, las relaciones simbióticas con organismos fijadores de nitrógeno convierten el nitrógeno molecular (N_2) en amoníaco (NH_3). El amoníaco es el primer producto estable de la fijación natural; a pH fisiológico, no obstante, el amoníaco se encuentra protonado formando el ión amonio (NH_4^+). El proceso de fijación biológica del nitrógeno, junto con la posterior incorporación de NH_3 en los aminoácidos, consume 16 moléculas de ATP por nitrógeno (Pate y Layzell 1990; Vande Broek y Vanderleyden 1995).
- La asimilación del sulfato (SO_4^{2-}) en el aminoácido cisteína a través de las dos rutas encontradas en las plantas consume aproximadamente 14 moléculas de ATP (Hell 1997).

Desde la perspectiva de la enorme cantidad de energía implicada, se considera que si estas reacciones ocurrieran rápidamente en el sentido contrario, es decir, el NH_4NO_3 (nitrato amónico) se convirtiera N_2, serían explosivas, liberando cantidades enormes de energía como movimiento, calor y luz. Casi todos los explosivos están basados en la rápida oxidación de compuestos de nitrógeno y azufre.

La asimilación de otros nutrientes, especialmente los cationes macronutrientes y micronutrientes (véase el capítulo 5), implica la formación de complejos con compuestos orgánicos. Por ejemplo, el Mg^{2+} se asocia con las clorofilas, el Ca^{2+} se asocia con los pectatos en la pared celular y el Mo^{6+} se asocia con enzimas como la nitrato reductasa y la nitrogenasa. Estos compuestos son muy estables y la eliminación del nutriente del complejo puede provocar la pérdida total de su función.

Este capítulo describe las principales reacciones por las que se asimilan los principales nutrientes (nitrógeno, azufre, fosfato, cationes y oxígeno). Dedicaremos especial atención a las implicaciones fisiológicas de los requerimientos energéticos necesarios e introduciremos el tema de la fijación simbiótica del nitrógeno.

EL NITRÓGENO EN EL ENTORNO

Muchos compuestos bioquímicos presentes en las células vegetales contienen nitrógeno (véase el capítulo 5). Por ejemplo, el nitrógeno se encuentra en nucleósidos fosfato y aminoácidos que forman los bloques básicos de ácidos nucleicos y proteínas, respectivamente. En células de plantas superiores, sólo los elementos oxígeno, carbono e hidrógeno son más abundantes que el nitrógeno. La mayoría de los ecosistemas naturales y agrícolas aumentan mucho su producción tras la fertilización con nitrógeno inorgánico, de ahí la importancia de este elemento.

En esta sección analizaremos el ciclo biogeoquímico del nitrógeno, el papel crucial de la fijación del nitrógeno en la conversión de nitrógeno molecular en amonio y nitrato y el destino del nitrógeno y el amonio en los tejidos vegetales.

El nitrógeno pasa por diversas formas en un ciclo biogeoquímico

El nitrógeno se presenta en la biosfera en muchas formas. La atmósfera contiene enormes cantidades de nitrógeno molecular (N_2) (cerca del 78 % en volumen) (véase el capítulo 9). La mayor parte de esta reserva de nitrógeno no está disponible para los organismos vivos de manera directa. La adquisición de nitrógeno de la atmósfera necesita la ruptura del enlace covalente triple, extraordinariamente estable, entre los dos átomos de nitrógeno para producir amoniaco (NH_3) o nitrato (NO_3^-). Estas

TABLA 12.1
Los principales procesos del ciclo biogeoquímico del nitrógeno

Procesos	Definición	Tasa (10^{12} g $año^{-1}$)[a]
Fijación industrial	Conversión industrial del nitrógeno molecular en amoniaco	80
Fijación atmosférica	Relámpagos y conversión fotoquímica del nitrógeno molecular en nitrato	19
Fijación biológica	Conversión procariota del nitrógeno molecular en amoniaco	170
Adquisición vegetal	Absorción y asimilación vegetal del amonio o nitrato	1200
Inmovilización	Absorción y asimilación microbiana de amonio o nitrato	N/C
Amonificación	Catabolismo bacteriano y fúngico de materia orgánica del suelo a amonio	N/C
Nitrificación	Oxidación bacteriana (*Nitrosomas* sp.) de amonio a nitrito y posterior oxidación bacteriana (*Nitrobacter* sp.) de nitrito a nitrato	N/C
Mineralización	Catabolismo bacteriano y fúngico de la materia orgánica del suelo a nitrógeno mineral a través de amonificación o nitrificación	N/C
Volatilización	Pérdida física de amonio gaseoso a la atmósfera	100
Fijación de amonio	Pérdida del amonio por quedar atrapado entre las partículas del suelo	10
Denitrificación	Conversión bacteriana de nitrato en óxido nítrico y nitrógeno molecular	210
Nitrato lixiviado	Flujo físico de nitrato disuelto en el agua del suelo desde la capa superficial y eventualmente en los océanos	36

Nota: Los organismos terrestres, el suelo y los océanos contienen unos $5,2 \times 10^{15}$ g, 95×10^{15} g y $6,5 \times 10^{15}$ g, respectivamente, de nitrógeno orgánico que es activo en el ciclo. Si asumimos que el N_2 atmosférico permanece constante (entradas = salidas), el *tiempo de residencia* (el tiempo medio que una molécula de nitrógeno permanece en las formas orgánicas) es de unos 370 años [tamaño/(entrada por fijación) = $(5,2 \times 10^{15}$ g + 95×10^{15} g)/(80×10^{12} g $año^{-1}$ + 19×10^{12} g $año^{-1}$ + 170×10^{12} g $año^{-1}$)] (Schlesinger 1997).
[a]N/C, no calculado.

reacciones, que se conocen como **fijación del nitrógeno**, pueden ser el resultado de procesos naturales e industriales.

En condiciones de temperatura elevada (unos 200 °C) y una presión también alta (200 atmósferas), el N_2 se combina con el hidrógeno para formar amoniaco. Por tanto, son necesarias condiciones extremas para superar la elevada energía de activación de la reacción. La reacción de fijación del nitrógeno, conocida como *proceso de Haber-Bosch*, es el punto de partida en la producción de una gran cantidad de productos industriales y agrícolas. La producción industrial mundial de fertilizantes de nitrógeno es mayor de 80×10^{12} g $año^{-1}$ (FAOSTAT 2001).

Los procesos naturales fijan unos 190×10^{12} g $año^{-1}$ de nitrógeno (Tabla 12.1) a través de los siguientes procesos (Schlesinger 1997):

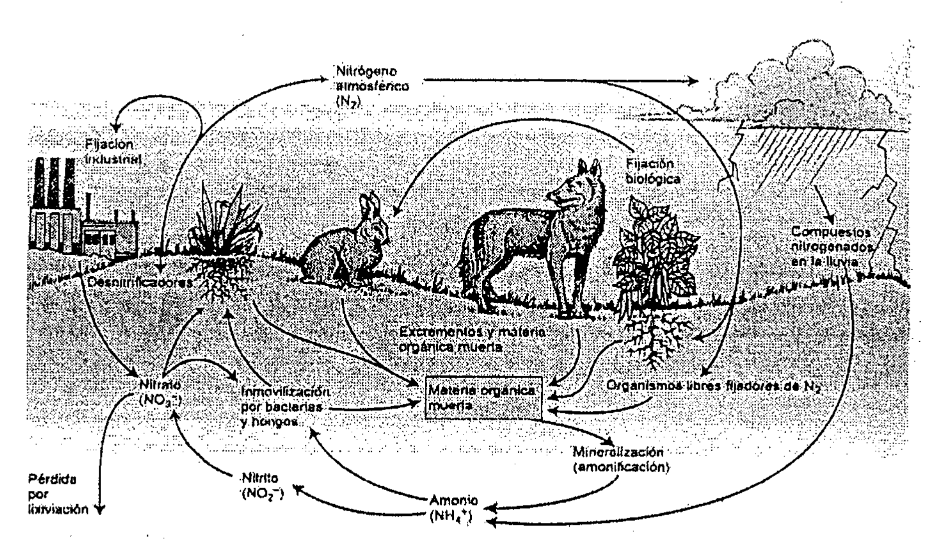


Figura 12.1 Los ciclos del nitrógeno a través de la atmósfera. Como cambia de la forma gaseosa a los iones reducidos antes de ser incorporado a los compuestos inorgánicos de los organismos vivos. Algunas de las etapas implicadas en el ciclo del nitrógeno.

- *Relámpagos*. Los relámpagos son los responsables de cerca de un 8% del nitrógeno fijado. Los relámpagos convierten el vapor de agua y el oxígeno en radicales hidroxilo libres, átomos de hidrógeno y oxígeno libres altamente reactivos, que pueden reaccionar con el nitrógeno molecular (N_2) para formar el ácido nítrico (HNO_3) que llega al suelo a través de la lluvia.
- *Reacciones fotoquímicas*. Aproximadamente un 2% del nitrógeno fijado deriva de las reacciones fotoquímicas entre el óxido nítrico (NO) y el ozono (O_3) para producir ácido nítrico (HNO_3).
- *Fijación biológica del nitrógeno*. El 90% del nitrógeno restante procede de la fijación biológica del nitrógeno, en bacterias o algas verdes (cianobacterias) que fijan el N_2 a amonio (NH_4^+).

Desde un punto de vista agrícola, la fijación biológica del nitrógeno es crítica porque la producción industrial de fertilizantes nitrogenados rara vez coincide con la demanda agrícola (FAOSTAT 2001).

Una vez fijado el amonio o nitrato, el nitrógeno entra en el ciclo biogeoquímico y pasa por varias formas orgánicas e inorgánicas antes de volver a la forma de nitrógeno molecular (Figura 12.1; véase también la tabla 12.1). Los iones amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) se generan a través de la fijación o se liberan a través de la descomposición de la materia orgánica del suelo llegando a convertirse en el objetivo de una intensa competición entre plantas y microorganismos. Para seguir siendo competitivas, las plantas han desarrollado mecanismos que capturan estos iones desde la solución del suelo tan rápidamente como es posible (véase el capítulo 5). A las concentraciones elevadas de nitrógeno que hay en el suelo tras la fertilización, la absorción de amonio y nitrato por las raíces puede exceder la capacidad de una planta para asimilar estos iones, provocando su acumulación en los tejidos vegetales.

El amonio o el nitrato almacenados pueden ser tóxicos

Las plantas pueden almacenar grandes niveles de nitrato o pueden transportarlos desde un tejido a otro sin ningún efecto perjudicial. Sin embargo, si el ganado o los humanos consumen esos tejidos vegetales con un alto contenido en nitrato, pueden sufrir metahemoglobinemia, una enfermedad en la que el hígado reduce el nitrato a nitrito, que se combina con la hemoglobina y provoca que la hemoglobina sea incapaz de unir oxígeno. Los humanos y otros animales pueden convertir el nitrato en nitrosaminas, que son potentes carcinógenos. Algunos países tienen limitado el contenido de nitrato en los productos vegetales vendidos para el consumo humano.

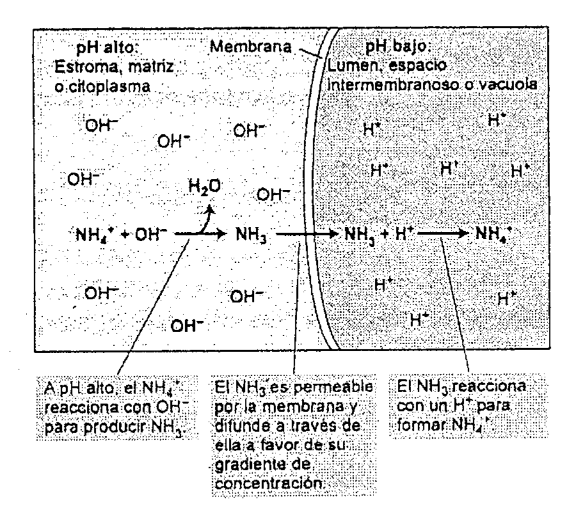


Figura 12.2 La toxicidad del NH_4^+ se basa en su capacidad de disipar gradientes de protones. El lado de la izquierda representa el estroma, la matriz o el citoplasma, donde el pH es alto; el lado de la derecha representa el lumen, el espacio intermembranoso o la vacuola, donde el pH es bajo; y la membrana representa el tilacoide, la membrana interna de la mitocondria o la membrana del tonoplasto para un cloroplasto, una mitocondria o una célula de raíz, respectivamente. El resultado neto de la reacción mostrada es que tanto la concentración de OH^- del lado de la izquierda como la concentración de H^+ en el de la derecha han disminuido; es decir, el gradiente de protones se ha disipado. (Según Bloom 1997).

A diferencia del nitrato, los niveles de amonio altos son tóxicos tanto para plantas como para animales. El amonio disipa los gradientes transmembrana de protones (Figura 12.2) que son necesarios para el transporte electrónico fotosintético y respiratorio (véanse los capítulos 7 y 11), así como para la incorporación de metabolitos en la vacuola (véase el capítulo 6). Como los niveles de amonio altos son tóxicos, los animales han desarrollado una fuerte repulsión por su olor. El carbonato amónico se emplea para reanimar a una persona que se ha desmayado. Las plantas asimilan amoniaco cerca del sitio de absorción o generación y cualquier exceso es rápidamente almacenado en sus vacuolas, evitando así sus efectos tóxicos sobre las membranas y el citosol.

En la siguiente sección analizaremos el proceso por el que el nitrato es absorbido por las raíces a través de un transportador simporte H^+/NO_3^- (véase el capítulo 6 para una análisis sobre el simporte) y es asimilado en compuestos orgánicos, así como los procesos enzimáticos mediante los cuales el nitrato es reducido a nitrito y luego éste a amonio.

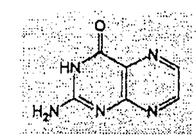
LA ASIMILACIÓN DEL NITRATO

La planta asimila la mayor parte del nitrógeno absorbido por sus raíces en compuestos orgánicos nitrogenados. El primer paso de este proceso es la reducción del nitrato a nitrito en el citosol (Oaks 1994). El enzima **nitrato reductasa** cataliza esta reacción:

$$NO_3^- + NAD(P)H + H^+ + 2\ e^- \rightarrow NO_2^- + NAD(P)^+ + H_2O \qquad (12.1)$$

donde NAD(P)H indica NADH o NADPH. La forma más común de la nitrato reductasa utiliza sólo NADH como dador de electrones; otra forma del enzima que se encuentra principalmente en tejidos no verdes como las raíces puede usar NADH o NADPH (Warner y Kleinhofs 1992).

Las nitrato reductasas de plantas superiores están compuestas por dos subunidades iguales cada una de las cuales contienen tres grupos prostéticos: FAD (flavina adenina dinucleótido), hemo y un molibdeno complejado a una molécula orgánica llamada *pterina* (Mendel y Stallmeyer 1995; Campbell 1999).



Una pterina (totalmente oxidada)

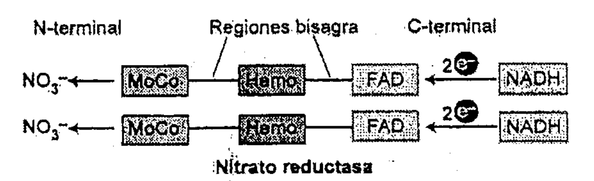


Figura 12.3 Modelo del dímero de la nitrato reductasa de plantas superiores, mostrando los tres dominios de unión, cuyas secuencias de polipéptidos son similares en eucariotas: el complejo molibdeno (MoCo), hemo y FAD. El NADH se une a la región de unión del FAD de cada subunidad e inicia la transferencia de dos electrones desde el extremo carboxilo (C), al extremo amino terminal (N), a través de los componentes de transferencia de electrones. El nitrato es reducido en el complejo molibdeno cerca del extremo amino. La secuencias polipeptídicas de las regiones bisagra son muy variables entre especies.

La nitrato reductasa es la principal proteína que contiene molibdeno en tejidos vegetativos y un síntoma de la deficiencia de molibdeno es la acumulación de nitrato como consecuencia de la disminución de la actividad de la nitrato reductasa.

La comparación de las secuencias de aminoácidos de la nitrato reductasa de varias especies con esas y otras proteínas bien caracterizadas porque unen FAD, hemo o molibdeno, ha permitido la construcción de un modelo de tres dominios para la nitrato reductasa. Dicho modelo se muestra en la figura 12.3. El dominio de unión del FAD acepta dos electrones del NADH o del NADPH. Los electrones pasan entonces al dominio hemo y de ahí al complejo de molibdeno, desde donde son transferidos al nitrato.

El nitrato, la luz y los carbohidratos regulan la nitrato reductasa

El nitrato, la luz y los carbohidratos influyen en los niveles de transcripción y traducción de la nitrato reductasa (Sivasankar y Oaks 1994). En plántulas de cebada, el mRNA de la nitrato reductasa se ha detectado aproximadamente 40 minutos después de haber sido añadido el nitrato, alcanzándose los niveles máximos a las 3 horas (Figura 12.4). En contraste con la rápida acumulación del mRNA se produce un aumento lineal y gradual de la actividad de la nitrato reductasa, reflejo de una síntesis lenta de proteínas.

Además, la proteína está sujeta a la modulación post-traduccional (implicando una fosforilación reversible) que es análoga a la regulación de la sacarosa fosfato sintasa (véanse los capítulos 8 y 10). La luz, los niveles de carbohidratos y otros factores ambientales estimulan una proteína fosfatasa que desfosforila varios residuos de serina de la nitrato reductasa y, por tanto, activa el enzima.

Las acciones contrarias, oscuridad y Mg^{2+}, estimulan una quinasa que desfosforila los mismos residuos de serina, que entonces interactúa con un inhibidor proteico

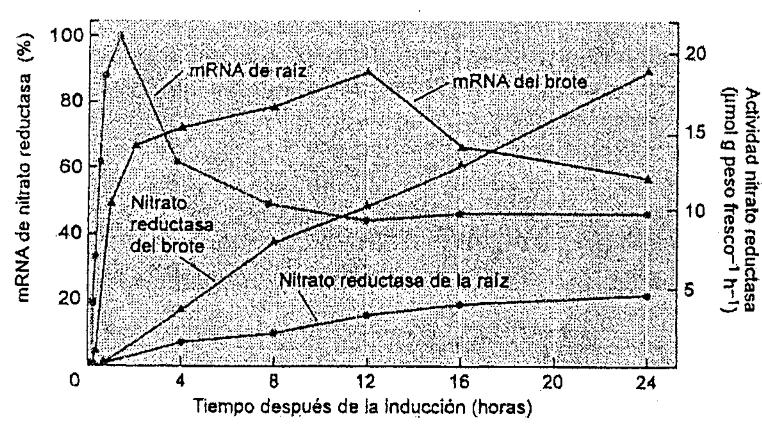


Figura 12.4 La estimulación de la actividad de la nitrato reductasa sigue a la inducción del mRNA en brotes y raíces de cebada. (Según Kleinhofs y col. 1989).

14-3-3 y así inactiva a la nitrato reductasa (Kaiser y col. 1999). *La regulación de la actividad de la nitrato reductasa a través de la fosforilación y desfosforilación proporciona un control más rápido que el que se alcanza mediante la síntesis y degradación del enzima (minutos frente a horas).*

La nitrito reductasa convierte el nitrito en amonio

El nitrito (NO_2^-) es altamente reactivo y un ión potencialmente tóxico. Las células vegetales transportan inmediatamente el nitrito generado por la reducción del nitrato (véase la ecuación 12.2) desde el citosol a los cloroplastos en hojas verdes y plastos en raíces. En estos orgánulos, el enzima nitrito reductasa reduce el nitrito a amonio de acuerdo con la siguiente reacción global:

$$NO_2^- + 6\ Fd_{red} + 8H^+ + 6e^- \rightarrow NH_4^+ + 6\ Fd_{ox} + 2\ H_2O \qquad (12.2)$$

donde Fd es ferredoxina y los subíndices *red* y *ox* representan los estados *reducido* y *oxidado*, respectivamente. La ferredoxina reducida deriva de la cadena de transporte electrónico fotosintética de los cloroplastos (véase el capítulo 7) y del NADPH generado por la ruta oxidativa de las pentosas fosfato en tejidos no fotosintéticos (véase el capítulo 11).

Los cloroplastos y plastos radicales contienen diferentes formas del enzima, pero todas ellas constan de un único polipéptido que contiene dos grupos prostéticos: un centro hierro-azufre (Fe_4S_4) y un grupo hemo especializado (Siegel y Wilkerson

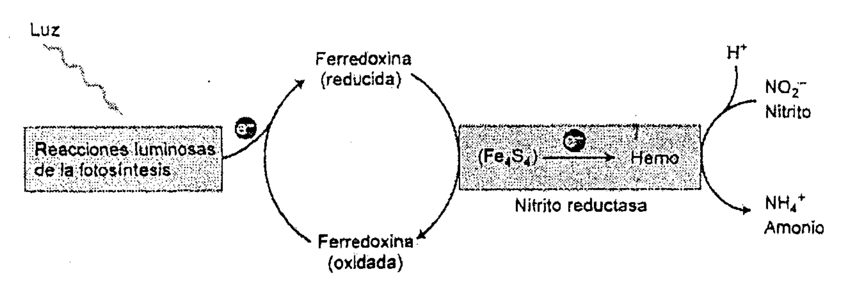


Figura 12.5 Modelo del acoplamiento del flujo de electrones fotosintéticos a través de la ferredoxina para la reducción del nitrito por la nitrito reductasa. El enzima contiene dos grupos prostéticos, Fe_4S_4 y hemo, que participan en la reducción del nitrito a amonio.

1989). Estos grupos actuando conjuntamente, unen el nitrito y lo reducen directamente a amonio, sin acumular compuestos nitrogenados en estados redox intermedios. La ruta del flujo de electrones a través de la ferredoxina (Fe_4S_4) y el grupo hemo se muestra en la figura 12.5.

La nitrito reductasa está codificada en el núcleo y sintetizada en el citoplasma con un péptido tránsito en el extremo amino que lo dirige a los plastos (Wray 1993). Mientras el NO_3^- y la luz inducen la transcripción del mRNA de la nitrito reductasa, los productos finales del proceso, asparragina y glutamina, reprimen esta inducción.

Las plantas asimilan nitrato tanto en las raíces como en los tallos

En muchas plantas, cuando las raíces reciben cantidades pequeñas de nitrato, el nitrato se reduce principalmente en las raíces. A medida que el aporte de nitrato aumenta, una mayor proporción del nitrato absorbido es transportado al tallo y asimilado allí (Marschner 1995). Incluso en condiciones similares de aporte de nitrato, el equilibrio entre el metabolismo del nitrógeno de la parte aérea y de la raíz varía con las especies, tal y como indica la proporción de la actividad de la nitrato reductasa en cada uno de los dos órganos o por las concentraciones relativas de nitrato y nitrógeno reducido en la savia del xilema.

En algunas plantas como la *cadillo* (*Xanthium strumarium*), el metabolismo del nitrato está reducido a las hojas; en otras plantas como el lupino blanco (*Lupinus albus*), la mayoría del nitrato es metabolizado por las raíces (Figura 12.6). En general, las especies nativas de regiones templadas realizan una mayor asimilación del nitrato por las raíces que las originarias de climas tropicales y subtropicales.

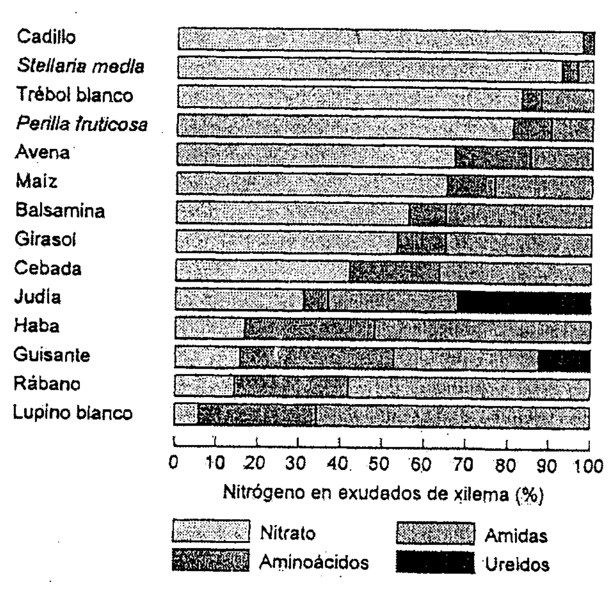


Figura 12.6 Cantidades relativas de nitrato y otros compuestos nitrogenados en los exudados del xilema de varias especies vegetales. Las plantas crecieron con las raíces expuestas a soluciones de nitrato y la savia del xilema fue recogida separando el tallo. Obsérvese la presencia de ureidos, compuestos especializados de nitrógeno, en judía y guisante (que se analizarán más adelante en el texto). (Según Pate 1983).

ASIMILACIÓN DEL AMONIO

Las células vegetales evitan la toxicidad del amonio convirtiendo rápidamente el amonio generado a partir de la asimilación del nitrato o de la fotorrespiración (véase el capítulo 8) en aminoácidos. La principal ruta de esta conversión implica la acción secuencial de la glutamina sintetasa y la glutamato sintasa (Lea y col. 1992). En esta sección analizaremos los procesos enzimáticos que median la asimilación del amonio en aminoácidos esenciales y el papel de las amidas en la regulación del metabolismo del nitrógeno y del carbono.

La conversión del amonio en aminoácidos requiere dos enzimas

La **glutamina sintetasa (GS)** combina el amonio con el glutamato para formar la glutamina (Figura 12.7A):

$$\text{Glutamato} + NH_4^+ + \text{ATP} \rightarrow \text{glutamina} + \text{ADP} + P_i \qquad (12.3)$$



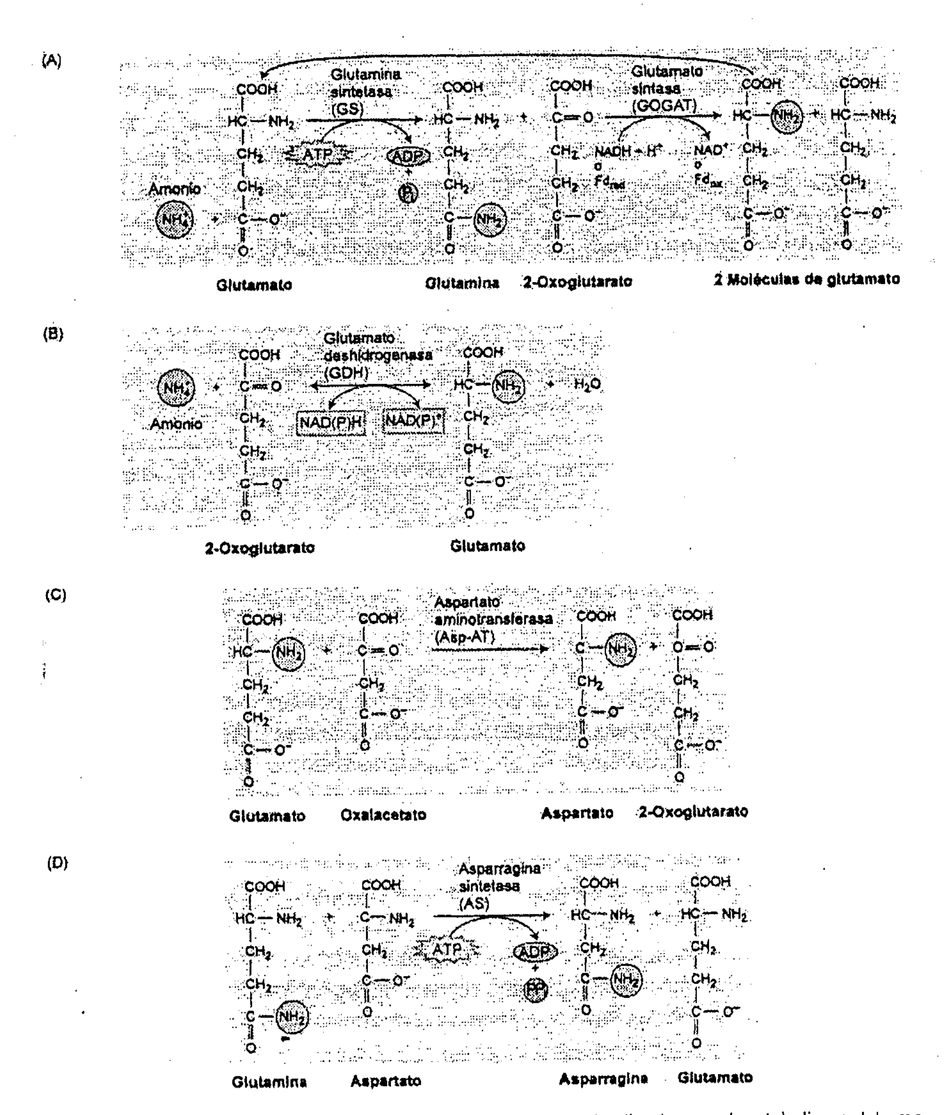


Figura 12.7 Estructura y rutas biosintéticas de los compuestos implicados en el metabolismo del amoníaco. El amoníaco puede ser asimilado por varios procesos. (A) La ruta GS-GOGAT que forma glutamina y glutamato. En la reacción se necesita un cofactor reducido: la ferredoxina en hojas verdes y el NADPH en tejidos no fotosintéticos. (B) La ruta GDH que forma glutamato a partir de NADH o NADPH como reductor. (C) Transferencia del grupo amino desde el glutamato al oxalacetato para formar aspartato (catalizada por la aspartato aminotransferasa). (D) Síntesis de asparragina por transferencia de un grupo amino de la glutamina al aspartato (catalizada por la asparragina sintetasa).

Esta reacción necesita hidrolizar un ATP e implica directamente a un catión divalente, Mg^{2+}, Mn^{2+} o Co^{2+}, como cofactor. Las plantas contienen dos clases de GS, una en el citosol y otra en los plastos de la raíz o en los cloroplastos de las hojas y cotiledones verdes. Las formas citosólicas se expresan durante la germinación de las semillas o en los haces vasculares de raíces y brotes para producir glutamina para el transporte intracelular. La GS de los plastos de la raíz genera nitrógeno en forma amida para el consumo local; la GS de los cloroplastos del brote reasimila el NH_4^+ fotorrespiratorio (Lam y col. 1994). La luz y los niveles de carbono alteran la expresión de las formas de los enzimas de los plastos, pero tienen muy poco efecto sobre las formas citosólicas.

Los niveles elevados de glutamina en los plastos estimulan la actividad de la **glutamato sintasa** (también conocida como glutamina:2-oxoglutarato aminotransferasa o **GOGAT**). Este enzima transfiere el grupo amida de la glutamina al 2-oxoglutarato, generando dos moléculas de glutamato (véase la figura 12.7A). Las plantas contienen dos tipos de GOGAT: una acepta electrones del NADH y la otra los acepta de la ferredoxina (Fd):

$$\text{Glutamina} + \text{2-oxoglutarato} + NADH + H^+ \rightarrow 2\ \text{glutamato} + NAD^+ \qquad (12.4)$$

$$\text{Glutamina} + \text{2-oxoglutarato} + Fd_{red} \rightarrow 2\ \text{glutamato} + Fd_{ox} \qquad (12.5)$$

El enzima del tipo NADH (NADH-GOGAT) está localizada en plastos de tejidos no fotosintéticos, como las raíces o la vaina del haz de las hojas en desarrollo. En las raíces, la NADH-GOGAT está implicada en la asimilación de NH_4^+ absorbido de la rizosfera (el suelo próximo a la superficie de las raíces); en las vainas de los haces de las hojas en desarrollo, la NADH-GOGAT asimila la glutamina transportada desde las raíces y las hojas senescentes.

La glutamato sintasa dependiente de ferredoxina (Fd-GOGAT) se encuentra en los cloroplastos y actúa en el metabolismo fotorrespiratorio del nitrógeno. Tanto la cantidad de proteínas como su actividad aumentan con los niveles de luz. Las raíces, particularmente aquellas que han crecido con nitrato, tienen Fd-GOGAT en los plastos. La Fd-GOGAT en las raíces funciona presumiblemente incorporando la glutamina generada durante la asimilación del nitrógeno.

El amonio puede ser asimilado a través de una ruta alternativa

La **glutamato deshidrogenasa (GDH)** cataliza una reacción reversible que sintetiza o desamina el glutamato (Figura 12.7B):

$$\text{2-oxoglutarato} + NH_3 + NAD(P)H \leftrightarrow \text{glutamato} + H_2O + NAD^+ \qquad (12.6)$$

En la mitocondria se encuentra una forma de GDH dependiente de NADH y en los cloroplastos de órganos fotosintéticos se ha localizado otra forma de GDH dependiente de NADPH. Aunque ambas formas son relativamente abundantes, no pueden sustituir la ruta GS-GOGAT para la asimilación del amonio y su principal función es desaminar el glutamato (véase la figura 12.7B).

Las reacciones de transaminación transfieren nitrógeno

Una vez asimilado el nitrógeno en glutamina y glutamato, el nitrógeno es incorporado a otros aminoácidos por reacciones de transaminación. Los enzimas que catalizan estas reacciones son conocidos como aminotransferasas. Un ejemplo es la **aspartato aminotransferasa (Asp-AT)**, que cataliza la siguiente reacción (Figura 12.7C):

$$\text{Glutamato} + \text{oxalacetato} \rightarrow \text{aspartato} + \text{2-oxoglutarato} \qquad (12.7)$$

en la cual el grupo amino del glutamato es transferido al grupo carboxilo del aspartato. El aspartato es un aminoácido ácido que participa en la lanzadera malato-aspartato para transferir equivalentes reductores desde la mitocondria al cloroplasto en el citosol (véase el capítulo 11) y el transporte de carbono desde el mesofilo a la vaina del haz en la fijación C_4 de carbono (véase el capítulo 8). Todas las reacciones de transaminación requieren piridoxal fosfato (vitamina B_6) como cofactor.

Las aminotransferasas se encuentran en el citoplasma, cloroplastos, mitocondrias, glioxisomas y peroxisomas. Las aminotransferasas localizadas en los cloroplastos tienen un papel significativo en la biosíntesis de aminoácidos, ya que al exponer hojas o cloroplastos aislados a dióxido de carbono marcado radiactivamente se observa una rápida incorporación de la marca radiactiva en el glutamato, asparragina, alanina, serina y glicina.

La asparragina y la glutamina unen el metabolismo del carbono y del nitrógeno

La asparragina, aislada del espárrago a principios de 1806, fue la primera amida identificada (Lam y col. 1996). No sólo actúa como un precursor proteico, sino como compuesto clave en el transporte y almacenamiento de nitrógeno debido a su estabilidad y a la alta relación de nitrógeno y carbono que tiene (2 N y 4 C en la asparragina, frente a los 2 N y 5 C de la glutamina o 1 N y 5 C en el glutamato).

La principal ruta de síntesis de la asparragina implica la transferencia del nitrógeno del grupo amida de la glutamina a la asparragina (Figura 12.7C):

$$\text{Glutamina} + \text{aspartato} + ATP \rightarrow \text{asparragina} + \text{glutamato} + AMP + PP_i \qquad (12.8)$$

La **asparragina sintetasa** (AS), el enzima que cataliza esta reacción, se encuentra en el citosol de hojas y raíces de nódulos fijadores de nitrógeno (véase la sección siguiente). En raíces de maíz, particularmente aquellas bajo niveles potencialmente tóxicos de amonio, el amonio puede sustituir a la glutamina como fuente de grupos amida (Sivarsankar y Oaks 1996).

La expresión de los genes codificantes de la AS y la actividad del enzima está inhibida a altos niveles de luz y carbohidratos, condiciones que estimulan la GS y la Fd-GOGAT en los plastos. La regulación antagónica de estas rutas competitivas ayuda a equilibrar el metabolismo del carbono y del nitrógeno en plantas (Lam y col. 1996). Las condiciones de gran energía (por ejemplo, altos niveles de luz y carbohidratos) estimulan GS y GOGAT, inhiben la AS y así favorecen la asimilación de nitrógeno en glutamina y glutamato, compuestos que son ricos en carbono y participan en la síntesis de nuevos compuestos vegetales.

Por el contrario, las condiciones de energía limitada, inhiben la GS y la GOGAT, estimulan AS y favorecen la asimilación del nitrógeno en asparragina, un compuesto que es rico en nitrógeno y suficientemente estable como para el transporte a larga distancia o el almacenamiento a largo plazo.

LA FIJACIÓN BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO

La fijación biológica de nitrógeno implica que la mayor parte del N_2 atmosférico es fijado a amonio, representando un punto clave de la entrada del N_2 molecular en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno (véase la figura 12.1). En esta sección describiremos las propiedades de los enzimas nitrogenasas que fijan el nitrógeno, las relaciones simbióticas entre organismos fijadores de nitrógeno y plantas superiores, las estructuras especializadas que forman las raíces cuando son infectadas por una bacteria fijadora de nitrógeno y las interacciones genéticas y de señalización que regulan la fijación del nitrógeno en los procariotas simbióticos y sus huéspedes.

El nitrógeno es fijado por bacterias libres y bacterias simbióticas

Como señalamos anteriormente, algunas bacterias pueden convertir el nitrógeno atmosférico en amonio (Tabla 12.2). La mayoría de estos procariotas fijadores de nitrógeno viven libremente en el suelo. Unos pocos forman asociaciones simbióticas con plantas superiores, en la que el procariota aporta a la planta hospedadora nitrógeno fijado y lo intercambia por otros nutrientes y carbohidratos (parte superior de la tabla 12.2). Dichas simbiosis tienen lugar en los nódulos que se forman en las raíces de la planta y que contienen las bacterias fijadoras de nitrógeno.

TABLA 12.2
Algunos ejemplos de organismos que realizan la fijación del nitrógeno

Fijación simbiótica del nitrógeno	
Planta hospedadora (macrosimbionte)	**Bacteria microsimbionte fijadora de N_2**
Leguminosas: legumbres, *Parasponia*	*Azorhizobium, Bradyrhizobium, Photorhizobium, Rhizobium, Sinorhizobium*
Aliso (árbol), *Ceanothus* (arbusto), *Casuarina* (árbol), *Datisca* (arbusto)	*Frankia*
Gunnera	*Nostoc*
Azolla (Helecho de agua)	*Anabaena*
Caña de azúcar	*Acetobacter*
Fijación del nitrógeno por bacterias libres	
Tipo	**Género de fijación de N_2**
Cianobacterias	*Anabaena, Calotrix, Nostoc*
Otras bacterias	
Aeróbicas	*Azospirillum, Azobacter, Beijerinckia, Derxia*
Facultativas	*Bacillus, Klebsiella*
Anaeróbicas	
No fotosintéticas	*Clostridium, Methanococcus* (arqueobacteria)
Fotosintéticas	*Chromatium, Rhodospirillum*

El tipo más común de simbiosis se produce entre los miembros de la familia Leguminosae y las bacterias del suelo del género *Azorhizobium, Bradyrhizobium, Photorhizobium, Rhizobium* y *Sinorhizobium* (llamados generalmente **rizobia**; tabla 12.3 y la figura 12.8). Otro tipo común de simbiosis se produce entre algunas especies vegetales leñosas como los árboles aliso y las bacterias del suelo del género *Frankia*. Hay también otro tipo de relación simbiótica entre la herbácea *Gunnera* de Sud América y un pequeño helecho de agua *Azolla* con las cianobacterias *Nostoc* y *Anabaena*, respectivamente (véase la tabla 12.2 y la figura 12.9).

La fijación del nitrógeno necesita condiciones anaeróbicas

Como el oxígeno inactiva irreversiblemente a la **nitrogenasa** implicada en la fijación del nitrógeno, el proceso de fijación del nitrógeno tiene lugar en condiciones anaeróbicas. Cada uno de los organismos fijadores de nitrógeno nombrados en la tabla 12.1 funcionan bien bajo condiciones anaeróbicas o bien crean un entorno interno anaeróbico en presencia de oxígeno.

TABLA 12.2
Algunos ejemplos de organismos que realizan la fijación del nitrógeno

Planta hospedadora	Rhizobia
Parasponia (una no leguminosa, formalmente llamada Trema)	*Braddyrhizobium* spp.
Soja (*Glicine max*)	Bradyrhizobium japonicum (de crecimiento lento); *Sinorhizobium fredii* (de crecimiento rápido)
Alfalfa (*Medicago sativa*)	*Sinorhizobium meliloti*
Sesbania (acuática)	Azorhizobium (forma nódulos tanto en las raíces como en los tallos; los tallos tienen raíces adventicias)
Judía (*Phaseolus*)	*Rhizobium leguminosarun* bv. *phaeoli*; *Rhizobium tropicii*; *etli*
Trébol (*Trifolium*)	*Rhizobium leguminosarun* bv. *trifolii*
Guisante (*Pisum sativum*)	*Rhizobium leguminosarun* bv. *viciae*
Aeschenomene (acuática)	*Photorhizobium* (un *rhizobia* fotosintéticamente activo que forma nódulos en los tallos, probablemente asociado a raíces adventicias)

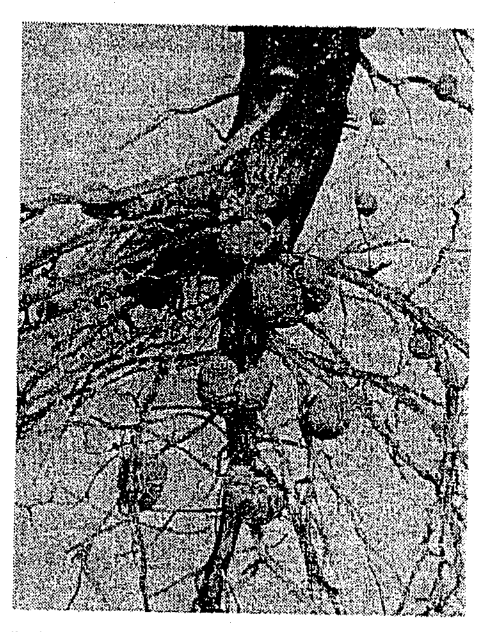


Figura 12.8 Nódulos radicales de soja. Los nódulos son el resultado de una infección por *Rhizobium japonicum* (© Wally Eberhart/Visuals Unlimited).

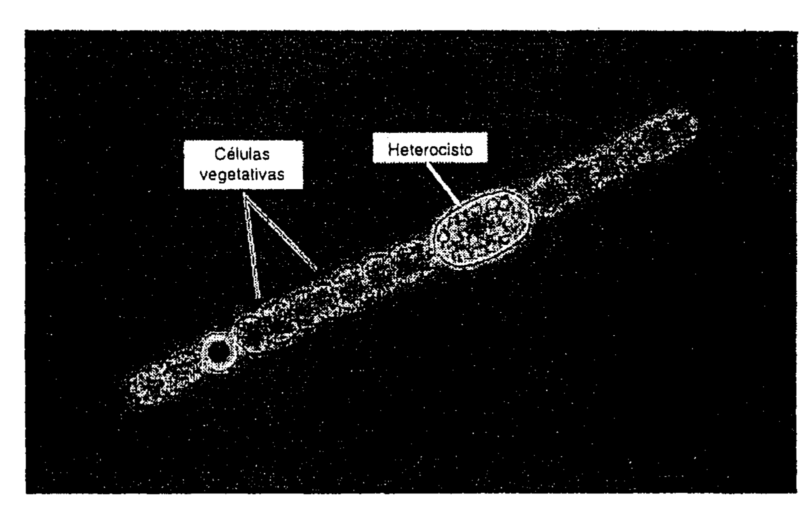


Figura 12.9 Un heterocisto de la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Anabaena*. La gruesa pared de los heterocistos, entre los espacios de las células vegetativas, crea un ambiente interior anaeróbico que permite a las cianobacterias fijar nitrógeno en condiciones anaeróbicas. (© Paul W. Jonson/ Biologica Photo Service).

En las cianobacterias, las condiciones anaeróbicas se crean en unas células especializadas llamadas *heterocistos* (véase la figura 12.9). Los heterocistos son células de gruesas paredes celulares que se diferencian cuando las bacterias filamentosas se ven privadas de NH_4^+. Estas células, entre otras adaptaciones, carecen del fotosistema II, el fotosistema productor de oxígeno en la fotosíntesis (véase el capítulo 7), por lo que no se genera oxígeno. Los heterocistos son una adaptación para la fijación de nitrógeno ya que están extendidos en cianobacterias filamentosas aeróbicas que fijan nitrógeno.

Las cianobacterias que no tienen heterocistos pueden llevar a cabo la fijación de nitrógeno sólo en condiciones anaeróbicas como las que existen en campos inundados. En países asiáticos, las cianobacterias fijadoras de nitrógeno, con y sin heterocistos, son el principal modo de mantener un aporte de nitrógeno adecuado en el suelo de campos de arroz. Estos microorganismos que fijan el nitrógeno cuando los campos se inundan y mueren cuando se secan, liberan el nitrógeno fijado en el suelo. Otra fuente importante de nitrógeno presente en los campos de arroz inundados es el pequeño helecho de agua llamado *Azolla*, que mantiene una asociación simbiótica con la cianobacteria *Anabaena*. La asociación *Azolla-Anabaena* puede fijar 0,5 Kg de nitrógeno atmosférico por hectárea y día, una tasa que es suficiente como para mantener moderados rendimientos en los campos de arroz.

Las bacterias libres que son capaces de fijar el nitrógeno pueden ser anaeróbicas, facultativas o aeróbicas (véase la tabla 12.2, parte inferior):

- Las bacterias *aeróbicas* fijadoras de nitrógeno como *Azobacter*, parece que mantienen condiciones reductoras de oxígeno (condiciones microaeróbicas) a través de sus elevados niveles de respiración (Burris 1976). Otras, como *Gloeothece*, generan el oxígeno fotosintéticamente durante el día y fijan el nitrógeno por la noche.
- Los organismos *facultativos*, que son capaces de crecer tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, generalmente fijan el nitrógeno en condiciones anaeróbicas.
- Para las bacterias *anaeróbicas* fijadoras de nitrógeno, el oxígeno no plantea ningún problema; estos organismos anaeróbicos pueden ser fotosintéticos (por ejemplo, *Rhodospirillum*), o no fotosintéticos (por ejemplo, *Clostridium*).

La fijación del nitrógeno simbiótico se produce en estructuras especializadas

La asociación simbiótica de plantas con procariotas fijadores de nitrógeno tiene lugar en los **nódulos**, unos órganos especiales de la planta hospedadora que encierra a la bacteria fijadora de nitrógeno (véase la figura 12.8). En el caso de la *Gunnera*, estos órganos son unas glándulas en el tallo que se desarrollan independientemente del simbionte. En el caso de las leguminosas y las actinorrizas, la bacteria fijadora de nitrógeno induce la formación de nódulos en las raíces de la planta.

Las herbáceas también pueden desarrollar asociaciones simbióticas con organismos fijadores de nitrógeno, pero en estas asociaciones no se producen nódulos radicales. En lugar de eso, las bacterias fijadoras de nitrógeno parecen colonizar los tejidos vegetales o se anclan a las superficies radicales, principalmente alrededor de la zona de elongación y de los pelos radicales (Reis y col. 2000). Por ejemplo, la bacteria fijadora de nitrógeno *Acetobacter diazotrophicus* vive en el apoplasto de los tejidos del tallo de la caña de azúcar y proporciona a su hospedador suficiente nitrógeno como para que no requiera fertilización (Dong y col. 1994). Se ha estudiado el potencial para la aplicación de *Azospirillium* a maíz y otros cereales, pero *Azospirillium* parece fijar poco nitrógeno cuando está asociado con estas plantas (Vande Broek y Vanderleyden 1995).

Las leguminosas y las actinorrizas regulan la permeabilidad gaseosa de sus nódulos, manteniendo un nivel de oxígeno en sus nódulos que permite la respiración, pero suficientemente bajo como para que no se produzca la inactivación de la nitrogenasa (Kuzma y col. 1993). La permeabilidad gaseosa aumenta con la luz y disminuye en condiciones de sequía o exposición a nitrato. Todavía no se conoce el mecanismo de regulación de la permeabilidad gaseosa.

Los nódulos contienen una proteína hemo que se une al oxígeno, la **leghemoglobina**. La leghemoglobina está presente en el citoplasma de las células infectadas del nódulo en altas concentraciones (700 µM en nódulos de soja), dando a los nódulos un color rosa. La parte globina de la leghemoglobina es producida por la célula huésped en respuesta a la infección por la bacteria (Marshner 1995) y la parte hemo es producida por la bacteria simbionte. La leghemoglobina tiene una gran afinidad por el oxígeno (una K_m aproximada de 0,01 µM); unas diez veces mayor que la cadena β de la hemoglobina humana.

Aunque se pensó que la leghemoglobina proporcionaba un tampón para el oxígeno del nódulo, estudios recientes indican que solamente almacena suficiente oxígeno como para permitir la respiración en el nódulo durante unos pocos segundos (Denison y Harter 1995). Su función es ayudar al transporte de oxígeno para la respiración en las células bacterianas simbióticas de modo análogo al transporte de oxígeno que ocurre por la hemoglobina en los tejidos respiratorios de animales (Ludwig y Vries 1986).

El establecimiento de la simbiosis requiere un intercambio de señales

La simbiosis entre leguminosas y rhizobia no es obligatoria. Las plántulas de leguminosas germinan sin ninguna asociación con rhizobia y pueden permanecer sin asociarse durante todo su ciclo vital. Los rhizobia también existen como organismos de vida libre. En condiciones limitantes de nitrógeno, sin embargo, los simbiontes se buscan el uno al otro a través de intercambio de señales. La señalización, el posterior proceso de infección y el desarrollo de los nódulos fijadores de nitrógeno implica genes específicos tanto en el hospedador como en el microsimbionte. Los genes vegetales específicos para formar los nódulos se llaman genes *NOD* y codifican ***nodulinas***. Los genes de los rhizobia que participan en la formación del nódulo se denominan genes de **nodulación** (*nod*) (Heidstra y Bisseling 1996). Los genes *nod* se clasifican en genes *nod* comunes y genes *nod* específicos del hospedador. Los genes *nod* comunes, *nodA*, *nodB y nodC*, se encuentran en todas las especies de rhizobia; los genes específicos del huésped, como *nodP*, *nodQ* y *nodH*; o *nodF*, *nodE* y *nodL*, son diferentes entre las distintas especies de rhizobia y determinan el rango del hospedaje. Sólo uno de los genes *nod*, el gen regulador *nodD*, se expresa constitutivamente y, como explicaremos con detalle más adelante en este capítulo, su producto proteico (NodD) regula la transcripción de los demás genes *nod*.

La primera etapa en la formación de la relación simbiótica entre la bacteria fijadora de nitrógeno y su huésped es la migración de la bacteria hacia las raíces de la planta huésped. Esta migración es una respuesta quimiotáctica mediada por atrayentes químicos, especialmente (iso)flavonoides y betaínas, secretadas por las raíces. Estos atrayentes activan la proteína NodD de los rhizobia, que entonces induce la transcripción de los genes *nod* (Phillips y Kapulnik 1995). La región promotora de

todos los operones *nod*, excepto el de *nodD*, contiene una secuencia altamente conservada llamada caja *nod*. La unión de NodD activado a la caja *nod* induce la transcripción de los otros genes *nod*.

Los factores Nod producidos por la bacteria actúan señales para la simbiosis

Los genes *nod* activados por *NodD* codifican las proteínas de nodulación, la mayoría de las cuales están implicadas en la biosíntesis de los factores Nod. Los **factores Nod** son lipoquitina oligosacáridos, que son moléculas de señalización. Todos presentan una quitina β-(1 $\rightarrow$ 4) unida a la N-acetil-D-glucosamina (cuya longitud varía de tres a seis unidades de azúcares) y una cadena de ácido graso en la posición C-2 del azúcar no reductor (Figura 12.10).

Tres de los genes *nod* (*nodA, nodB* y *nodC*) codifican los enzimas NodA, NodB y NodC, respectivamente) que son necesarios para la síntesis de esta estructura básica (Stokkermanans y col. 1995):

1. NodA es una N-aciltransferasa que cataliza la adición de una cadena de ácido graso.
2. NodB es una quitina oligosacárido desacetilasa que elimina el grupo acetilo del azúcar no reductor terminal.
3. NodC es una quitina oligosacárido sintasa que une monómeros de N-acetil-D-glucosamina.

Los genes *nod* específicos del hospedador, que varían entre las especies de rhizobia, están implicados en la modificación de la cadena de ácido graso o en la adición de grupos importantes para determinar la especificidad del hospedador (Carlson y col. 1995):

- NodE y NodF determinan la longitud y el grado de saturación de la cadena del ácido graso; los de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* y *R. meliloti* dan lugar a la síntesis de un ácido graso 18:4 y 16:2, respectivamente. (Recuérdese del capítulo 11 que el número antes de los dos puntos indica el número total de carbonos en la cadena de ácido graso y el número después de los dos puntos indica el número de dobles enlaces.
- Otros enzimas, como NodI, influyen en la especificidad del huésped de los factores Nod a través de la adición de sustituciones específicas en los azúcares reductores y no reductores del esqueleto de quitina.

Figura 12.10 Los factores Nod son lipoquitina oligosacáridos. Las cadenas de los ácidos grasos suelen tener de 16 a 18 carbonos. El número de repeticiones de la región media (*n*) normalmente es 2 ó 3. (Según Stokkermans y col. 1995).

Una leguminosa hospedadora sólo responde a factores Nod específicos. Los receptores de la leguminosa para los factores Nod parecen ser lectinas especiales (proteínas de unión a azúcares) producidas en los pelos radicales (van Rhijn y col. 1998; Etzler y col. 1999). Los factores Nod activan esas lectinas, aumentando la hidrólisis de los puentes fosfoanhidro de los nucleósidos di- y trifosfato. Esta activación directa de la lectina dirige a un rhizobia particular a los huéspedes apropiados y facilita el anclaje de los rhizobia a las paredes celulares de un pelo radical.

La formación del nódulo implica a varias fitohormonas

Durante la formación del nódulo radical ocurren dos procesos simultáneamente: la infección y la organogénesis del nódulo. Durante el proceso de infección, los rhizobia que están anclados a los pelos radicales liberan factores Nod que inducen una pronunciada curvatura de las células de los pelos radicales (Figuras 12.11A y B). Estos rhizobia quedan atrapados en los pequeños compartimentos formados por la curvatura. La pared celular del pelo radical se degrada en estas regiones, también en respuesta a los factores Nod, permitiendo el acceso directo de las células bacterianas a la superficie exterior de la membrana plasmática vegetal (Lazarowitz y Bisseling 1997).

El siguiente paso es la formación de un **tubo de infección** (Figura 12.11C), una extensión tubular de la membrana plasmática producida por la fusión de las vesículas derivadas del aparato de Golgi en el sitio de infección. Este tubo crece en el extremo por la fusión de vesículas secretoras al final del tubo. Adentrándonos en el córtex radical, cerca del xilema, las células corticales se diferencian y empiezan a dividirse, formando un área diferenciada en el córtex, llamada *nódulo del primordio*,

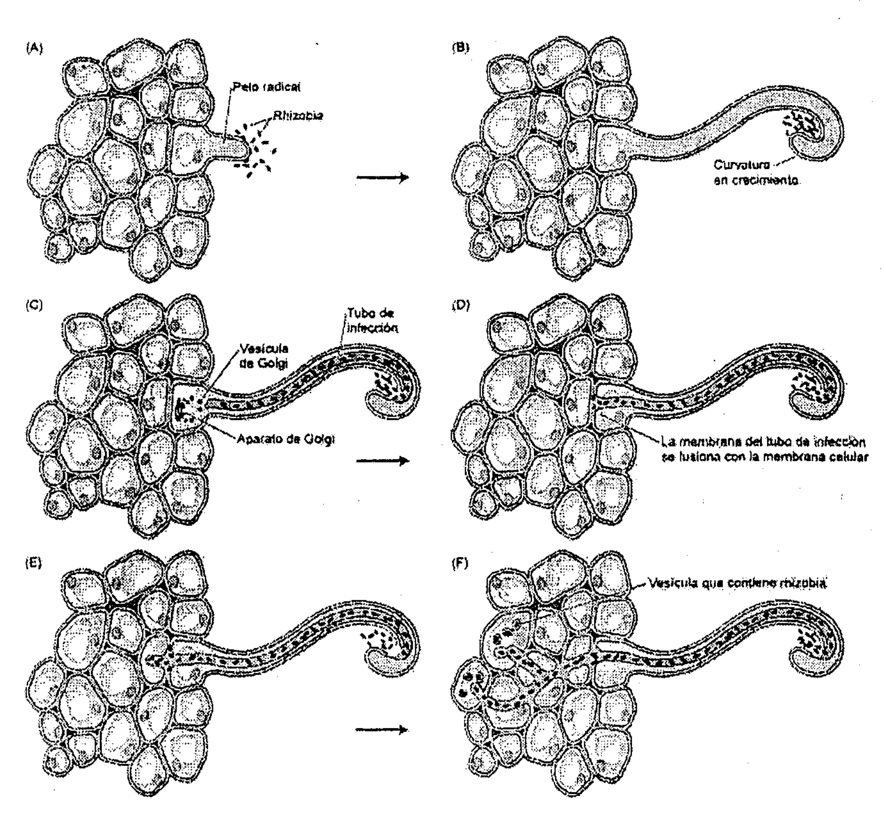


Figura 12.11 El proceso de infección durante la organogénesis del nódulo. (A) Los *rhizobia* se unen a un pelo radical emergente en respuesta a atrayentes químicos enviados por la planta. (B) En respuesta a los factores producidos por la bacteria, el pelo radical muestra un crecimiento curvilíneo anormal y los rhizobia proliferan en la zona del enrollamiento. (C) Degradación localizada de la pared del pelo radical que conduce a la infección y a la formación del tubo de infección a partir de las vesículas secretoras del Golgi de las células radicales. (D) El tubo de infección alcanza el extremo de la célula y su membrana se funde con la membrana plasmática de la célula del pelo radical. (E) Los rhizobia son liberados en el apoplasto y penetran por la lámina media a la membrana plasmática de la célula subepidérmica, iniciando un nuevo tubo de infección, que forma un canal abierto con el primero. (F) El tubo de infección se extiende y ramifica hasta que llega a las células diana, donde las vesículas compuestas de membrana vegetal que encierran las células bacterianas se liberan al citosol.

a partir del cual se desarrolla el nódulo. Los nódulos primordiales se forman opuestos a los polos del protoxilema de los haces vasculares de la raíz (Timmers y col. 1999) (véase el **tema web 12.1**).

Los diferentes compuestos de señalización, actuando tanto positiva como negativamente, controlan la posición del nódulo del primordio. El nucleósido uridina difunde desde el cilindro vascular al córtex de las zonas del protoxilema de la raíz y

estimula la división celular (Lazarowitz y Bisseling 1997). El etileno se sintetiza en las regiones del periciclo, difunde al córtex y bloquea la división celular opuesta a los polos del floema de la raíz.

El tubo de infección lleno con los rhizobia proliferantes crece a lo largo del pelo radical y de las capas de células corticales, en dirección al nódulo del primordio. Cuando el tubo de infección alcanza las células especializadas del nódulo, el ápice del tubo se funde con la membrana plasmática de la célula huésped, liberándose las células bacterianas que están empaquetadas en una **membrana** derivada de la membrana plasmática de la célula huésped (véase la figura 12.11D). La ramificación del tubo de infección dentro del nódulo permite a las bacterias infectar muchas células (Figuras 12.11E y F) (Mylona y col. 1995).

Inicialmente, las bacterias continúan las divisiones y la membrana que las rodea aumenta en el área superficial para acomodar su crecimiento por fusión de vesículas pequeñas. A partir de una señal no determinada desde la planta, rápidamente, las bacterias cesan su división y empiezan a aumentar de tamaño y a diferenciarse en orgánulos endosimbióticos fijadores de nitrógeno llamados **bacteroides**. La membrana que rodea a los bacteroides se llama *membrana peribacteroidal*.

El nódulo, en su conjunto, desarrolla algunas características tales como el sistema vascular (que facilita el intercambio de nitrógeno fijado producido por los bacteroides por nutrientes suministrados por la planta) y una capa de células para exportar el O_2 del interior del nódulo radical. En algunas leguminosas de clima templado (como los guisantes), los nódulos son alargados y cilíndricos debido a la presencia de un *nódulo meristemático*. Los nódulos de las leguminosas tropicales como la soja y los cacahuetes, carecen de un meristemo permanente y tienen forma esférica (Rolfe y Gresshoff 1988).

El complejo enzimático nitrogenasa fija N_2

La fijación biológica del nitrógeno, al igual que en la fijación industrial, produce amoniaco e hidrógeno molecular. La reacción global es:

$$N_2 + 8\,e^- + 8\,H^+ + 16\,ATP \rightarrow 2\,NH_3 + H_2 + 16\,ADP + 16\,P_i \qquad (12.9)$$

Obsérvese que en la reducción del N_2 a 2 NH_3, hay una transferencia de seis electrones que se acopla a la reducción de dos protones para producir H_2. Esta reacción está catalizada por el **complejo enzimático nitrogenasa**.

El complejo enzimático nitrogenasa puede separarse en dos componentes: la proteína Fe y la proteína Mo-Fe, ninguna de las cuales tiene actividad catalítica por sí sola (Figura 12.12):

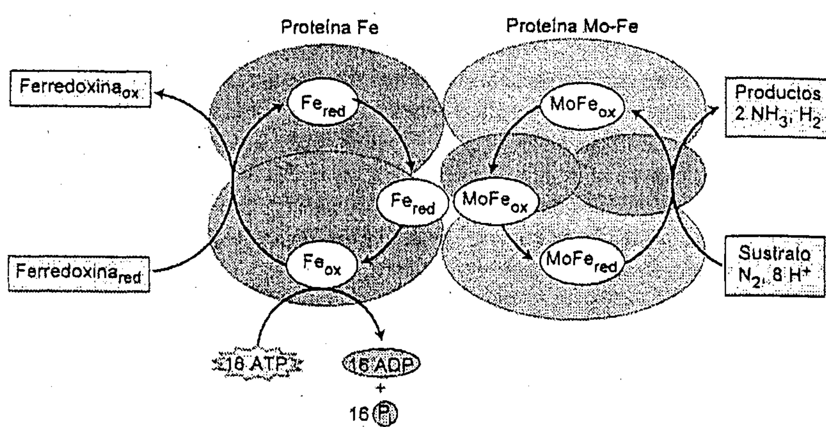


Figura 12.12 Reacción catalizada por la nitrogenasa. La ferredoxina reduce la proteína Fe. Se piensa que la unión e hidrólisis de ATP a la proteína de hierro provoca un cambio conformacional en la proteína que facilita las reacciones redox. La proteína de Fe reduce a la proteína Fe-Mo, que a su vez reduce al N_2. (Según Dixon y Wheeler 1986; y Buchanan y col. 2000).

- La reductasa de la nitrogenasa, o proteína Fe (componente II), es la más pequeña de los dos componentes y está formada por dos subunidades idénticas de 30 a 72 kDa cada una, dependiendo de los organismos. Tiene cuatro centros hierro-azufre ($4Fe\text{-}4S^{2-}$) que participan en las reacciones redox implicadas en la conversión de N_2 en NH_3. La proteína Fe es muy sensible al O_2 y se inactiva de manera irreversible en su presencia, con una vida media de 30 a 45 segundos (Dixon y Wheeler 1986).
- La dinitrogenasa, o proteína Fe-Mo (componente I), tiene cuatro subunidades con una masa total entre 180 y 235 kDa, dependiendo de las especies. Cada subunidad tiene dos centros Mo-Fe-S y un número variable de centros de Fe-S. La proteína Mo-Fe es inactivada por el oxígeno con una vida media en aire de 10 minutos.

En la reacción global de reducción (véase la figura 12.12) catalizada por la nitrogenasa, la ferredoxina actúa como dador de electrones a la proteína Fe, que hidroliza ATP y reduce la proteína Mo-Fe. La hidrólisis del ATP tiene lugar en esta etapa. La proteína Mo-Fe puede reducir numerosos sustratos (Tabla 12.4), aunque, en condiciones naturales de reacción, el N_2 y los H^+ son los únicos sustratos. Una de las reacciones catalizadas por la nitrogenasa, la reducción del acetileno a etileno, se utiliza para estimar la actividad nitrogenasa (véase el **tema web 12.2**).

TABLA 12.4
Reacciones catalizadas por la nitrogenasa

$N_2 \rightarrow NH_3$	Fijación del nitrógeno molecular
$N_2O \rightarrow N_2 + H_2O$	Reducción del óxido nitroso
$N_3^- \rightarrow N_2 + NH_3$	Reducción de la azida
$C_2H_2 \rightarrow C_2H_4$	Reducción del acetileno
$2H^+ \rightarrow H_2$	Producción de hidrógeno molecular
$ATP \rightarrow ADP + P_i$	Actividad hidrolítica del ATP

Fuente: Según Burris 1976.

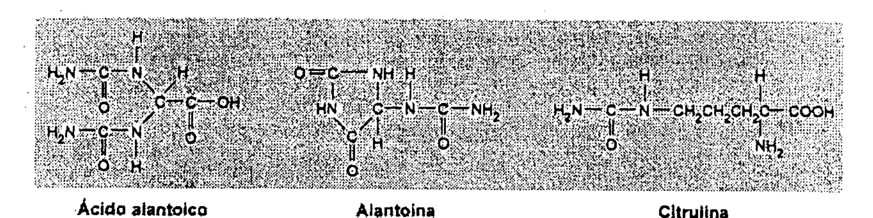
La energética de la fijación del nitrógeno es compleja. La producción de NH_3 a partir de N_2 y de H_2 es una reacción exergónica (véase el capítulo 2 en la página web para un análisis de las reacciones exergónicas) con un $\Delta G^{\circ\prime}$ de -27 kJ mol^{-1}. Sin embargo, el proceso industrial de producción de NH_3 a partir de N_2 y de H_2 es un proceso *endergónico*, y necesita una gran energía debido a la necesidad de romper el triple enlace del N_2. Por esa razón, la reducción del N_2 por la nitrogenasa necesitaría un gran aporte de ATP (véase la ecuación 12.9), aunque los cambios de energía libre exactos no se conocen.

Los cálculos basados en el metabolismo de carbohidratos de leguminosas muestran que una planta consume 12 g de carbono orgánico por cada gramo de N_2 fijado (Heitler y col. 1984). Basándonos en la Ecuación 12.9, la $\Delta G^{\circ\prime}$ para toda la reacción de fijación biológica del nitrógeno es de unos -200 kJ mol^{-1}. Como el conjunto de la reacción es altamente exergónica, la producción de amoniaco está limitada por la acción lenta del complejo nitrogenasa (número de moléculas de N_2 reducidas por unidad de tiempo) (Ludwig y de Vries 1986).

En condiciones naturales, se reducen cantidades importantes de H^+ a H_2 (gas) pudiendo este proceso competir por los electrones de la nitrogenasa utilizados en la reducción de N_2. En rhizobia, del 30 al 60% de la energía aportada a la nitrogenasa puede perderse en forma de H_2, disminuyendo la eficiencia de la fijación. No obstante, algunas clases de rhizobia contienen una hidrogenasa, un enzima que es capaz de romper el H_2 y generar electrones para la reducción de N_2, aumentando así la eficiencia de la fijación del nitrógeno (Marshner 1995).

Las amidas y los ureidos son formas de transporte del nitrógeno

Los procariotas simbióticos que fijan nitrógeno liberan amonio que, para evitar su toxicidad, debe ser rápidamente convertido a formas orgánicas en los nódulos radicales para luego ser transportadas al tallo a través del xilema. Basándose en la com-



Ácido alantoico — Alantoina — Citrulina

Figura 12.13 Los principales ureidos empleados para transportar nitrógeno desde los sitios de fijación hasta los lugares donde la desaminación proporciona nitrógeno para la síntesis de aminoácidos y nucleósidos.

posición de la savia del xilema, las leguminosas fijadoras de nitrógeno pueden dividirse en exportadoras de amidas o exportadoras de ureidos. Las leguminosas de regiones templadas tales como guisante (*Pisum*), trébol (*Trifolium*), haba (*Vicia*) y lenteja (*Lens*) tienden a exportar amidas (principalmente asparragina y glutamina).

Las leguminosas de origen tropical como soja (*Glycine*), alubia (*Phaseolus*), cacahuete (*Arachis*) y guisante del sur (*Vigna*) exportan nitrógeno en forma de **ureidos**. Los tres principales ureidos son alantoina, ácido alantoico y citrulina (Figura 12.13). La alantoina se sintetiza en los peroxisomas, a partir del ácido úrico, y el ácido alantoico se sintetiza, a partir de la alantoina, en el retículo endoplásmico. No se ha podido determinar el lugar donde se realiza la síntesis de la citrulina a partir del aminoácido ornitina. Estos tres compuestos nitrogenados son finalmente liberados al xilema y transportados al tallo, donde son rápidamente catabolizados a amonio. Este amonio entra en la ruta de asimilación descrita anteriormente.

LA ASIMILACIÓN DEL AZUFRE

El azufre es el elemento más versátil de los organismos vivos (Hell 1997). Los puentes disulfuro de las proteínas juegan un papel estructural y regulador (véase el capítulo 8). El azufre participa en la cadena de transporte electrónico a través de los centros hierro-azufre (véanse los capítulos 7 y 11). Los sitios catalíticos de varios enzimas y coenzimas, como la ureasa y el coenzima A contienen azufre. Los metabolitos secundarios (compuestos que no están implicados en las principales rutas de crecimiento y desarrollo) que contienen azufre van desde los factores Nod de los rhizobia analizados en la sección anterior hasta al antiséptico alina del ajo y el anticancerígeno sulforafano del brócoli.

La versatilidad del azufre deriva en parte de la propiedad que comparte con el nitrógeno: *múltiples estados de oxidación estables*. En esta sección analizaremos las etapas enzimáticas que median la asimilación de azufre y las reacciones bioquímicas que catalizan la reducción del sulfato a los dos aminoácidos que contienen azufre, cisteína y metionina.

Las plantas absorben azufre en forma de sulfato

La mayor parte del azufre presente en las células de plantas superiores procede sobre todo del sulfato (SO_4^{2-}) incorporado desde el suelo a través de un transportador simporte H^+/SO_4^{2-} (véase el capítulo 6). El sulfato del suelo procede de la erosión de material rocoso. No obstante, con la industrialización, se ha añadido una fuente adicional del sulfato: *la polución atmosférica*. El uso masivo de combustibles fósiles libera algunas formas gaseosas de azufre, como el dióxido de azufre (SO_2) y el ácido sulfhídrico (H_2S) que llegan al suelo a través de la lluvia.

Cuando el SO_2 disuelto en el agua es hidrolizado, se convierte en ácido sulfúrico (H_2SO_4), un ácido fuerte, que es la causa principal de la lluvia ácida. Las plantas pueden metabolizar el dióxido de azufre incorporado en forma gaseosa a través de los estomas. Sin embargo, una exposición prolongada (más de 8 horas) a altas concentraciones atmosféricas (más de 0,3 ppm) de SO_2 provoca un daño importante en los tejidos, debido a la formación de ácido sulfúrico.

La asimilación de sulfato requiere la reducción del sulfato a cisteína

La primera etapa en la síntesis de los compuestos orgánicos que contienen azufre es la reducción del sulfato al aminoácido cisteína (Figura 12.14). El sulfato es muy estable y necesita ser activado para que puedan producirse las reacciones posteriores. La activación se inicia con la reacción entre el sulfato y el ATP para formar 5'-adenilsulfato (al que algunas veces se le nombra como adenosina-5'-fosfato, que se abrevia como APS) y pirofosfato (PP_i) (véase la figura 12.14):

$$SO_4^{2-} + \text{Mg-ATP} \rightarrow \text{APS} + PP_i \qquad (12.10)$$

El enzima que cataliza esta reacción es la ATP sulfurilasa que tiene dos formas. La principal se encuentra en plastos y otra de menor importancia en el citoplasma (Leustek y col. 2000). La activación de la reacción es energéticamente desfavorable. Para conseguir que esta reacción se produzca, los productos APS y PP_i han de ser convertidos inmediatamente a otros compuestos. El PP_i es hidrolizado a fosfato inorgánico (P_i), de acuerdo con la siguiente reacción

$$PP_i + H_2O \rightarrow 2\ P_i \qquad (12.11)$$

El otro producto, APS, es reducido rápidamente o sulfatado. La reducción es la ruta predominante (Leustek y col. 2000).

La reducción de APS es un proceso de varias etapas que ocurre exclusivamente en los plastos. Primero, la APS reductasa transfiere dos electrones del glutatión reducido (GSH) para producir sulfito (SO_3^{2-}):

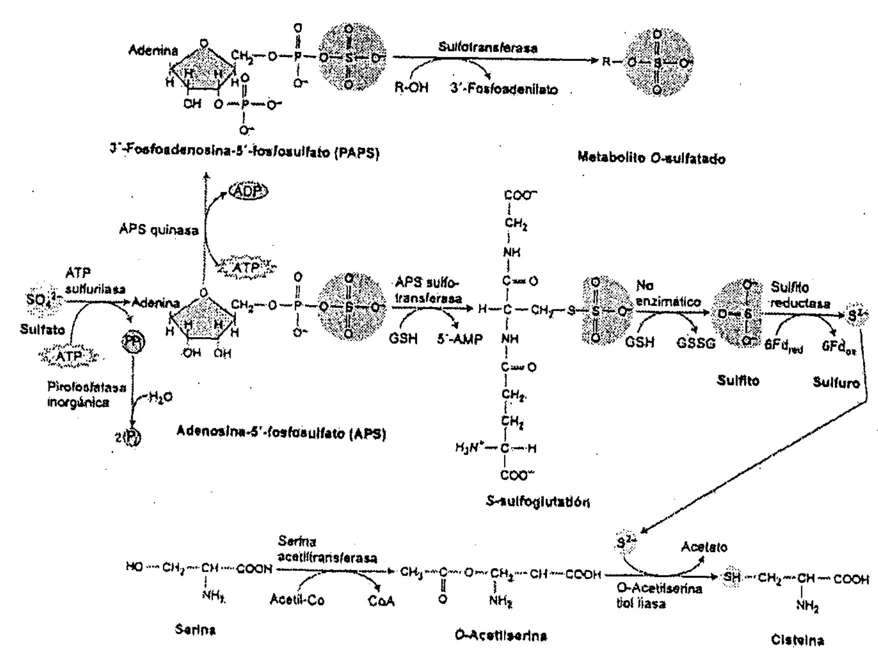


Figura 12.14 La estructura y rutas de compuestos implicados en la asimilación de azufre. El enzima ATP sulfurilasa rompe el pirofosfato del ATP y lo reemplaza por sulfato. El sulfuro es producido a partir del APS a través de reacciones que implican la reducción de glutatión y ferredoxina. El sulfuro o el tiosulfuro reaccionan con la O-acetilserina para formar cisteína. Fd, ferredoxina; GSH, glutatión reducido; GSSG, glutatión oxidado.

$$APS + 2\ GSH \rightarrow SO_3^{2-} + 2\ H^+ + GSSG + AMP \qquad (12.12)$$

donde GSSG son las siglas del glutatión oxidado. (El *SH* en GSH y *SS* en GSSG corresponden a enlaces S-H y S-S, respectivamente.)

Segundo, la sulfito reductasa transfiere seis electrones de la ferredoxina (Fd_{red}) para producir sulfuro (S^{2-}):

$$SO_3^{2-} + 6\ Fd_{red} \rightarrow S^{2-} + 6\ Fd_{ox} \qquad (12.13)$$

El sulfuro resultante reacciona con la O-acetilserina (OAS) para formar cisteína y acetato. La O-acetilserina que reacciona con el S^{2-} se forma en la reacción catalizada por la serina acetil transferasa:

$$Serina + acetil\ CoA \rightarrow OAS + CoA \qquad (12.14)$$

La reacción que produce cisteína y acetato está catalizada por la OAS-tiol liasa:

$$OAS + S^{2-} \rightarrow cisteína + acetato \qquad (12.15)$$

La sulfatación de APS, localizada en el citosol, es la ruta alternativa. Primero la APS quinasa cataliza una reacción de APS con ATP para formar 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS):

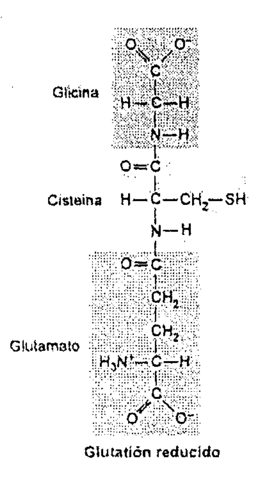
$$APS + ATP \rightarrow PAPS + ADP \qquad (12.16)$$

Las sulfotransferasas pueden transferir el grupo sulfato desde PAPS a varios compuestos, entre ellos, colina, brasinosteroides, flavonol, glucósido del ácido gálico, glucosinolatos, péptidos y polisacáridos (Leustek y Saito 1999).

La asimilación de sulfato se produce mayoritariamente en hojas

La reducción de sulfato a cisteína cambia el estado de oxidación del azufre de +6 a –4, produciéndose una transferencia de 10 electrones. El glutatión, ferredoxina, NAD(P)H y *O*-acetilserina actuan como dadores de electrones en varias etapas de la ruta (véase la figura 12.14).

Las hojas son generalmente mucho más activas que las raíces, probablemente debido a que la fotosíntesis proporciona ferredoxina y la fotorrespiración genera serina que estimula la producción de *O*-acetilserina (véase el capítulo 8). El azufre asimilado en las hojas es exportado a través del floema a los lugares donde se realiza la síntesis de proteínas (ápices de los brotes y de la raíz y frutos), principalmente como glutatión (Bergmann y Rennenberg 1993)



El glutatión también actúa como una señal que coordina la absorción de sulfato por las raíces y la asimilación de sulfato por el brote.

La metionina se sintetiza a partir de la cisteína

La metionina, otro aminoácido proteico que contiene azufre, se sintetiza en los plastos a partir de la cisteína (véase el **tema web 12.3**). Tras la síntesis de cisteína y metionina, el azufre puede ser incorporado a proteínas y a una gran variedad de compuestos como el acetil-CoA y la S-adenosilmetionina. Este último compuesto es muy importante en la síntesis de etileno (véase el capítulo 22) y en las reacciones sintéticas, ya que está involucrado tanto en las reacciones de transferencia de grupos metilos como en la síntesis de la lignina (véase el capítulo 13).

ASIMILACIÓN DE FOSFATO

El fosfato (HPO_4^{2-}) del suelo es absorbido por las raíces de las plantas a través de un transportador simporte H^+/HPO_4^{2-} e incorporado a diferentes compuestos orgánicos, incluidos azúcares fosfato, fosfolípidos y nucleótidos. El principal punto de entrada del fosfato en las rutas de asimilación es la formación de ATP, la «moneda energética» de la célula. En la reacción global de este proceso, se añade fosfato inorgánico al segundo grupo fosfato de la adenosina difosfato (ADP) para formar un enlace éster fosfato.

En la mitocondria, la energía que dirige la síntesis de ATP procede de la oxidación del NADH por fosforilación oxidativa (véase el capítulo 11). La síntesis de ATP también está dirigida por la fotofosforilación que se produce en los cloroplastos (véase el capítulo 7). Además de estas reacciones en la mitocondria y en los cloroplastos, el fosfato se asimila en reacciones que tienen lugar en el citoplasma, a nivel de sustrato.

La glicólisis incorpora el fosfato inorgánico al ácido 1,3-bisfosfoglicérico, formando un grupo acilfosfato de gran energía. Este fosfato puede ser cedido al ADP para formar ATP, en una reacción de fosforilación a nivel de sustrato (véase el capítulo 11). Una vez incorporado en el ATP, el grupo fosfato puede ser transferido a través de diversas reacciones para formar los diferentes compuestos fosforilados presentes en las células de las plantas superiores.

ASIMILACIÓN DE CATIONES

La asimilación de cationes por las células vegetales se realiza gracias a la formación de complejos con compuestos orgánicos en los que el catión se une al complejo por enlaces no covalentes (para un análisis detallado sobre los enlaces no covalentes, véase el capítulo 2 en la página web). Tanto la asimilación de cationes macronutrientes como calcio, potasio y magnesio, así como la de cationes micronutrientes como cobre, hierro, manganeso, cobalto, sodio y cinc se produce de este modo. En esta sección describiremos los enlaces de coordinación y los enlaces electrostáticos, que median la asimilación de varios cationes que las plantas necesitan como nutrientes y las necesidades especiales para la absorción de hierro por las raíces, así como su posterior asimilación dentro de la planta.

Los cationes forman enlaces no covalentes con componentes carbonados

Los enlaces no covalentes formados entre los cationes y los compuestos carbonados son de dos tipos: enlaces coordinados y enlaces electrostáticos. En la formación de un complejo de coordinación, varios átomos de oxígeno o de nitrógeno de un com-

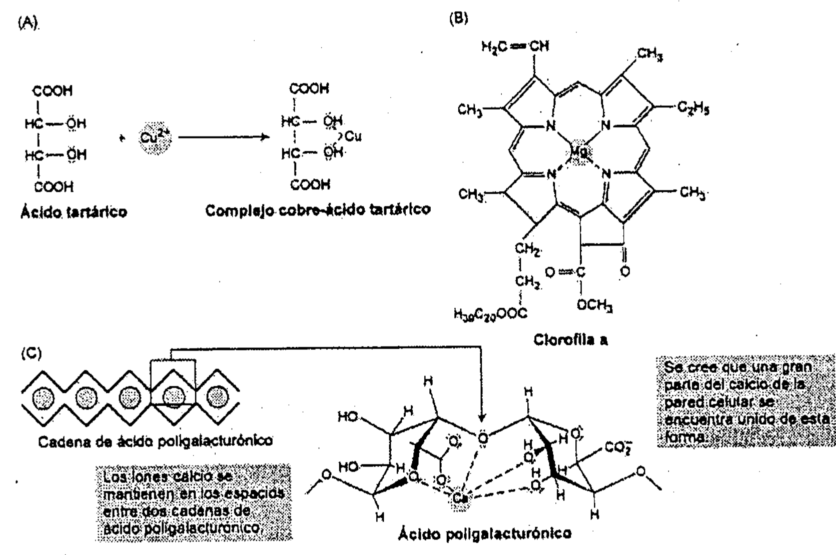


Figura 12.15 Ejemplos de complejos de coordinación. Los complejos de coordinación se forman cuando átomos de oxígeno o nitrógeno de un compuesto carbonado donan sus electrones no compartidos (representados por puntos) para formar un enlace con un catión. (A) Los iones cobre comparten electrones con los oxígenos de los hidroxilos del ácido tartárico. (B) Los iones magnesio comparten electrones con los átomos de nitrógeno en la clorofila *a*. Las líneas discontinuas representan el enlace coordinado entre los electrones no compartidos del átomo de nitrógeno y el catión magnesio. (C) El modelo de la «caja de huevos» de la interacción del ácido poligalacturónico, un componente principal de las pectinas de las paredes celulares, con los iones calcio. A la derecha se muestra una ampliación de un único ión de calcio formando un complejo de coordinación con los oxígenos de los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico. (Según Rees 1977).

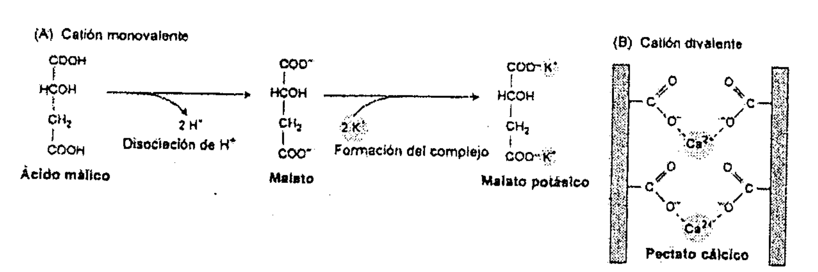


Figura 12.16 Ejemplos de la formación de complejos electrostáticos (iónicos). (A) Un catión monovalente K^+ y el malato forman el complejo malato potásico. (B) Un catión divalente Ca^{+2} y el pectato forman el complejo pectato cálcico. Los cationes divalentes forman enlaces cruzados entre las cadenas paralelas que contienen grupos carboxilo cargados negativamente. Las uniones cruzadas del calcio pueden jugar un papel estructural en las paredes celulares.

puesto carbonado ceden electrones no compartidos para formar enlaces con el catión nutriente. Como consecuencia de ello, se neutralizan las cargas positivas del catión.

Los *enlaces de coordinación* suelen formarse entre cationes polivalentes y moléculas de carbono, por ejemplo, complejos entre el cobre y el ácido tartárico (Figura 12.15A) o el magnesio y la clorofila *a* (Figura 12.15B). Los nutrientes que son asimilados formando complejos de coordinación son cobre, cinc, hierro y magnesio. El calcio puede también formar complejos de coordinación con el ácido galacturónico de las paredes celulares (Figura 12.15C).

Los *enlaces electrostáticos* se forman por la atracción del catión cargado positivamente por un grupo cargado negativamente como el carboxilato ($-COO^-$) de un compuesto orgánico. A diferencia de la situación que se da en los enlaces coordinados, en los enlaces electrostáticos el catión retiene su carga positiva. Los cationes monovalentes como el potasio (K^+) pueden formar enlaces electrostáticos con los grupos carboxilo de muchos ácidos orgánicos (Figura 12.16A). Sin embargo, una gran parte del potasio que se acumula en las células vegetales y participa en la regulación osmótica y en la activación de enzimas, permanece en el citosol y en la vacuola como ión libre. Los iones divalentes como el calcio forman enlaces electrostáticos con pectatos (Figura 12.16B) y con los grupos carboxilo del ácido poligalacturónico (véase el capítulo 15).

En general, cationes como el magnesio (Mg^{2+}) y el calcio (Ca^{2+}) se asimilan por la formación tanto de complejos de coordinación como de enlaces electrostáticos con aminoácidos, fosfolípidos y otras moléculas cargadas negativamente.

Las raíces modifican la rizosfera para captar el hierro

El hierro es importante en las proteína ferrosulfuradas (véase el capítulo 7) y como catalizador de reacciones redox mediadas por enzimas (véase el capítulo 5), tales

como las del metabolismo del nitrógeno analizadas anteriormente. Las plantas obtienen el hierro del suelo, donde está presente principalmente en la forma férrica (Fe^{3+}) en óxidos como $Fe(OH)^{2+}$, $Fe(OH)_3$ y $Fe(OH)_4^-$. A pH neutro, el ión férrico es altamente insoluble. Para absorber cantidades suficientes de hierro de la solución del suelo, las raíces han desarrollado varios mecanismos que aumentan la solubilidad del hierro y así su disponibilidad. Estos mecanismos son:

- Acidificar el suelo, ya que de esta forma se aumenta la solubilidad del hierro, catión férrico (Fe^{3+}).
- Reducir el ión férrico a formas de hierro más solubles (Fe^{2+}).
- Liberar compuestos que forman complejos estables y solubles con el hierro (Marschner 1995). Recuérdese del capítulo 5 que tales compuestos se denominan quelatos de hierro (véase la figura 5.2).

Las raíces generalmente acidifican el suelo alrededor de ellas. Durante la absorción y asimilación de los cationes, particularmente amonio, liberan protones y ácidos orgánicos, como el ácido málico y el ácido cítrico, que mejoran la disponibilidad de hierro y fosfato (véase la figura 5.4). Las deficiencias de hierro estimulan la salida de los protones desde las raíces. Además, la membrana plasmática de las raíces contiene un enzima llamado *reductasa quelante de hierro*, que reduce el ión férrico a la forma ferrosa, con NADH o NADPH actuando como dadores de electrones. La actividad de este enzima aumenta en condiciones de escasez de hierro.

Varios compuestos secretados por las raíces forman quelatos estables de hierro. Entre ellos están el ácido málico, el ácido cítrico, los fenoles y el ácido piscídico. Las herbáceas producen una clase especial de quelatos de hierro llamados *fitosideróforos*. Los fitosideróforos están formados por aminoácidos que no se encuentran en las proteínas, como el ácido mugineico, y forman complejos altamente estables con el Fe^{3+}. Las células de las raíces de las herbáceas tienen en sus membranas sistemas de transporte Fe^{3+}/fitosideróforos que llevan el quelato al citoplasma. En condiciones de deficiencia, las raíces de las herbáceas liberan la mayoría de los fitosideróforos al suelo, aumentando la capacidad de transporte del sistema Fe^{3+}/fitosideróforo.

Las formas de hierro forman complejos con carbono y fosfato

Una vez las raíces absorben el hierro o el quelato de hierro, éstos se oxidan a la forma férrica y una gran parte se transporta a las hojas como un complejo electrostático con citrato.

La mayor parte del hierro de la planta se encuentra en la molécula hemo de los citocromos existentes en los cloroplastos y en las mitocondrias (véase el capítulo 7).

Ferroquelatasa

Anillo porfirina

Figura 12.17 La reacción de la ferroquelatasa. El enzima ferroquelatasa cataliza la inserción del hierro en el anillo de porfirina para formar un complejo coordinado. El esquema de la biosíntesis del anillo de la porfirina se muestra en la figura 7.37.

Una reacción importante de asimilación del hierro es su inserción en la porfirina, un precursor del grupo hemo. Esta reacción está catalizada por el enzima ferroquelatasa (Figura 12.17) (Jones 1983). Además, las proteínas ferrosulfuradas de la cadena de transporte electrónico (véase el capítulo 7) contienen Fe en un grupo no hemo covalentemente unido a los átomos de azufre de los residuos de cisteína en la apoproteína. El hierro también se encuentra en los centros Fe_2S_2, que contienen dos hierros (cada uno complejado con los átomos de sulfuro de los residuos de cisteína) y dos sulfuros inorgánicos.

El hierro libre (hierro que no está complejado a compuestos carbonados) puede interaccionar con el oxígeno para formar aniones superóxido (O_2^-), que dañan las membranas al degradar los componentes lipídicos no saturados. Las células vegetales pueden limitar dicho daño por almacenamiento de un excedente de hierro en las hojas en un complejo proteína-hierro llamado **fitoferritina** (Bienfait y Van der Mark 1983). La fitoferritina está formada por una proteína con 24 subunidades idénticas que forman una esfera hueca con una masa molecular de 480 kDa. El centro de esta esfera contiene entre 5400 y 6200 átomos de hierro presentes como un complejo óxido férrico-fosfato.

No se sabe bien cómo se libera el hierro de la fitoferritina, pero parece que está implicada la ruptura de la proteína. El nivel de hierro libre en las células vegetales regula la biosíntesis *de novo* de la fitoferritina (Lobreauz y col. 1992).

ASIMILACIÓN DEL OXÍGENO

La respiración da cuenta de la cantidad de oxígeno (O_2) que asimilan las células vegetales (cerca del 90%) (véase el capítulo 11). Otra ruta principal de la asimilación de O_2 en compuestos orgánicos implica la incorporación de O_2 desde el agua (véase

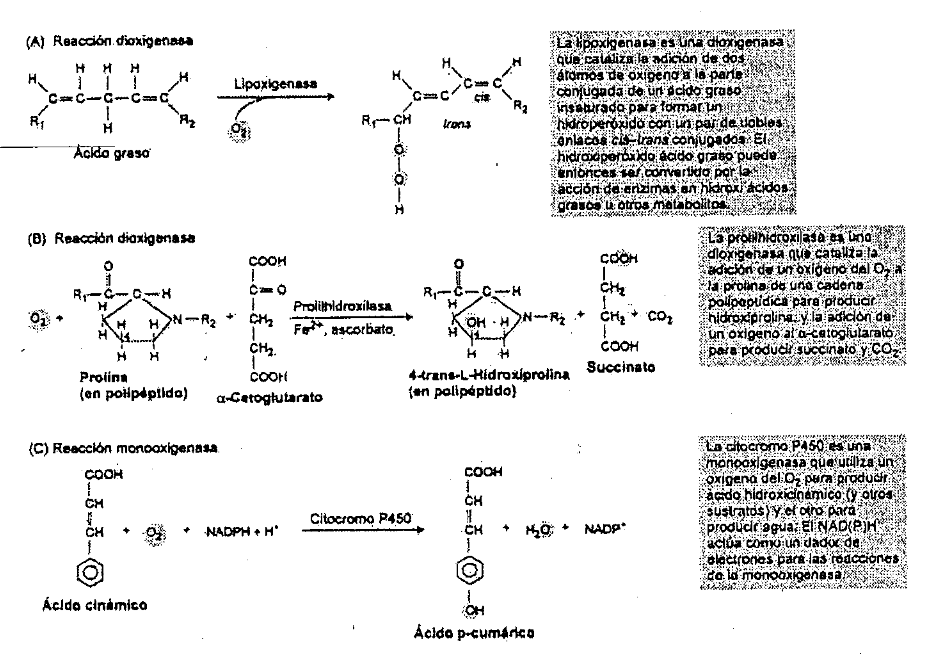


Figura 12.18 Ejemplos de los diferentes tipos de reacciones de las oxigenasas en células de plantas superiores.

la reacción 1 en la tabla 8.1). Una pequeña parte de oxígeno puede ser asimilada directamente en compuestos orgánicos en el proceso de *fijación del oxígeno*.

En la fijación del oxígeno, el oxígeno molecular es añadido directamente a compuestos orgánicos en reacciones catalizadas por las *oxigenasas*. Recordemos del capítulo 8 que el oxígeno es incorporado directamente a compuestos orgánicos durante la fotorrespiración en una reacción que implica la actividad oxigenasa de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco), el enzima de fijación del CO_2 (Ogren 1984). El primer producto estable que contiene oxígeno procedente de esa molécula original de oxígeno es el 2-fosfoglicolato.

En general, las oxigenasas se clasifican en monooxigenasas y dioxigenasas, según el número de átomos de oxígeno que son transferidos a un compuesto orgánico en la reacción catalizada por el enzima. En las **dioxigenasas** se incorporan los dos átomos de oxígeno a uno o dos compuestos carbonados (Figura 12.18A y B). Entre las dioxigenasas presentes en células vegetales encontramos la lipoxigenasa, que cataliza la adición de dos átomos de oxígeno a ácidos grasos insaturados (véase la figura 12.18A), y la prolina hidroxilasa, el enzima que convierte la prolina en hidroxiprolina, un aminoácido poco común (véase la figura 12.18B).

La hidroxiprolina es un componente muy importante de la extensina, proteína de la pared celular (véase el capítulo 1). La síntesis de hidroxiprolina a partir de prolina se diferencia de la síntesis de todos los otros aminoácidos en que la reacción se produce después de que la prolina ha sido incorporada a la proteína y es, por tanto, una reacción de modificación post-transcripcional. La prolina hidroxilasa está localizada en el retículo endoplásmico, sugiriendo que la mayoría de las proteínas que contienen hidroxiprolina se encuentran en la ruta secretora.

Las **monooxigenasas** añaden uno de los dos átomos del oxígeno molecular a compuestos orgánicos y el otro átomo es convertido en agua. Las monooxigenasas también son conocidas como *oxidasas de función mixta* debido a su capacidad de catalizar simultáneamente la reacción de oxigenación y la reacción oxidasa (reducción del oxígeno al agua). La reacción de la monooxigenasa necesita un sustrato reducido (NADH o NADPH) como dador de electrones, de acuerdo con la siguiente reacción:

$$A + O_2 + BH_2 \rightarrow AO + H_2O + B$$

donde A representa un compuesto orgánico y B un dador de electrones.

Una monooxigenasa importante en las células vegetales es la familia de proteínas hemo, conocida colectivamente como citocromo P450, que cataliza la hidroxilación del ácido cinámico a ácido *p*-cumárico (Figura 12.8C). En la reacción de la monooxigenasa, primero es necesario activar el oxígeno por combinación con el átomo de hierro del grupo hemo, donde el NADPH actúa como dador de electrones. La oxidasa de función mixta está localizada en el retículo endoplásmico y es capaz de oxidar varios sustratos, incluidos mono– y diterpenos y ácidos grasos.

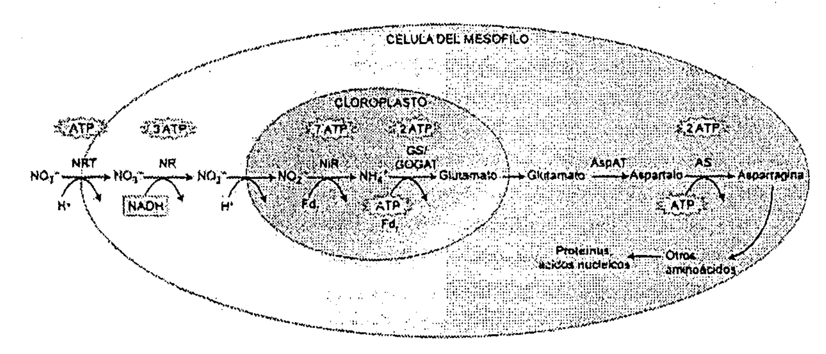


Figura 12.19 Resumen de los procesos implicados en la asimilación de nitrógeno mineral en la hoja. El nitrato transportado desde las raíces a través del xilema es absorbido por las células del mesofilo a través de un transportador simporte de nitrato y protones (NRT) en el citoplasma. Allí es reducido a nitrito por la nitrito reductasa (NR). El nitrito es transportado al estroma de los cloroplastos junto con un protón. En el estroma, el nitrito es reducido a amonio por la nitrito reductasa (NiR) y el amonio es convertido a glutamato por la acción secuencial de la glutamina sintetasa (GS) y la glutamato sintasa (GOGAT). Una vez en el citoplasma, el glutamato es transaminado a aspartato a través de la aspartato aminotransferasa (Asp-AT). Finalmente, la asparragina sintetasa (AS) convierte el aspartato en asparragina. Las cantidades aproximadas de equivalentes de ATP se dan en cada reacción.

LA ENERGÉTICA DE LA ASIMILACIÓN DE NUTRIENTES

La asimilación de nutrientes generalmente requiere grandes cantidades de energía para convertir compuestos inorgánicos estables de baja energía en compuestos orgánicos de alta energía. Por ejemplo, la reducción del nitrato a nitrito y éste a amonio necesita la transferencia de unos diez electrones y gasta aproximadamente un 25% de la energía proporcionada por las raíces y la parte aérea (Bloom 1997). En consecuencia, una planta puede usar un cuarto de su energía para asimilar nitrógeno, un elemento que constituye menos del 2% del peso seco total de la planta.

Muchas de estas reacciones de asimilación de nutrientes se producen en el estroma de los cloroplastos, donde tienen un fácil acceso a los poderosos agentes reductores como NADPH, tiorredoxina y ferredoxina generados durante el transporte

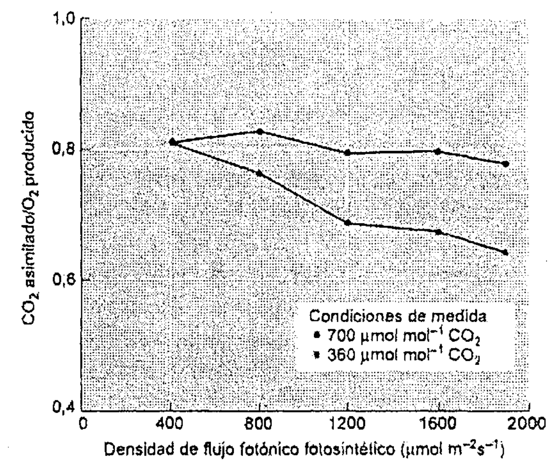


Figura 12.20 El cociente asimilador (AQ = asimilación de CO_2/O_2 producido) de plántulas de trigo en función del nivel de luz (radiación fotosintéticamente activa). La asimilación del nitrato está directamente relacionada con el cociente asimilador porque la transferencia de electrones del nitrato al nitrito durante la fotoasimilación aumenta la producción de O_2 de las reacciones de la fotosíntesis que dependen de la luz, mientras que la asimilación de CO_2 por las reacciones dependientes de la luz continúa a velocidades similares. Por tanto, las plantas que están fotoasimilando nitrato muestran un AQ menor. En medidas llevadas a cabo en un ambiente con concentraciones de CO_2 de 360 µmol mol^{-1} (línea roja), el AQ disminuye en función de la radiación incidente, indicando que las velocidades de fotoasimilación han aumentado. A concentraciones elevadas de CO_2 (700 µmol^{-1} de CO_2, línea azul), el AQ permanece constante a todos los niveles de luz usados, indicando que las reacciones de fijación del CO_2 están compitiendo por el poder reductor e inhibiendo la fotoasimilación (Según Bloom y col. 2002). (Véase la imagen en color en el CD).

electrónico fotosintético. Este proceso, el acoplamiento de la asimilación de nutrientes al transporte electrónico fotosintético, se denomina **fotoasimilación** (Figura 12.19).

La fotoasimilación y el ciclo de Calvin tienen lugar en el mismo compartimento, pero sólo cuando el transporte de electrones fotosintético genera poder reductor (NADPH) en exceso, respecto de las necesidades del ciclo de Calvin (por ejemplo, en condiciones de mucha luz y bajo CO_2) se produce la fotoasimilación (Robinson 1988). Altos niveles de CO_2 inhiben la fotoasimilación (Figura 12.20 véase el **ensayo web 12.1**). En consecuencia, las plantas C_4 (véase el capítulo 8) realizan la mayor parte de la fotoasimilación en las células del mesofilo donde las concentraciones de CO_2 son bajas (Becker y col. 1993).

La investigación de los mecanismos que regulan el reparto del poder reductor entre el ciclo de Calvin y la fotoasimilación es de gran importancia porque se espera que en el próximo siglo se doble la cantidad de CO_2 (véase el capítulo 9), fenómeno que puede afectar a las relaciones planta-nutriente.

RESUMEN

La asimilación de nutrientes es el proceso por el cual los nutrientes son incorporados por las plantas a los constituyentes carbonados necesarios para su crecimiento y desarrollo. Estos procesos implican con frecuencia una serie de reacciones químicas que son altamente energéticas y que dependen directamente del poder reductor generado en la fotosíntesis.

Para el nitrógeno, la asimilación consta de una serie de etapas que constituyen el ciclo del nitrógeno. El ciclo del nitrógeno abarca las diferentes etapas del nitrógeno en la biosfera y sus interconversiones. Las principales fuentes de nitrógeno disponible para las plantas son el nitrato (NO_3^-) y el amonio (NH_4^+).

El nitrato absorbido por las raíces es asimilado bien en las raíces, bien en las hojas, dependiendo del nitrato disponible y las especies vegetales. En la asimilación del nitrato, el nitrato es reducido a nitrito (NO_2^-) en el citosol a través de la nitrato reductasa; a continuación el nitrito es reducido a amonio en los plastos de la raíz o en los cloroplastos a través de la nitrito reductasa.

El amonio derivado de la absorción por las raíces o generado por la asimilación del nitrato o por la fotorrespiración, es convertido en glutamina y glutamato a través de las acciones esenciales de la glutamina sintetasa y la glutamato sintasa, que se encuentran en en el citosol, en los plastos de la raíz o en los cloroplastos.

Muchas plantas establecen una relación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno que contienen un complejo enzimático, la nitrogenasa, que puede reducir el nitrógeno atmosférico a amoniaco. Las leguminosas y los plantas actinorrízicas forman asociaciones con rhizobia y *Frankia*, respectivamente. Estas asociaciones resultan de un fino ajuste entre el microsimbionte y la planta hospedadora que implican el reconocimiento de señales específicas, la inducción de un programa de desarrollo en la planta, la incorporación de la bacteria a la planta y el desarrollo de nódulos, únicos órganos donde viven las bacterias en las células vegetales. Algunos organismos procariotas fijadores de nitrógeno no establecen relaciones simbióticas con las plantas superiores, pero las plantas se benefician porque enriquecen el contenido de nitrógeno del suelo.

Al igual que el nitrato, el sulfato (SO_4^{2-}) debe ser reducido durante el proceso de asimilación. En la reducción del sulfato, se forma una forma activada de sulfato llamada 5'-adenilsulfato (APS). El sulfuro (S^{2-}), producto final de la reducción del sulfato, no se acumula en las células vegetales porque es rápidamente incorporado a los aminoácidos cisteína y metionina.

El fosfato (HPO_4^{2-}) está presente en una gran cantidad de compuestos de las células vegetales, como azúcares fosfato, lípidos, ácidos nucleicos y nucleótidos libres. El producto inicial de su asimilación es el ATP, que se produce por la fosforilación a nivel de sustrato en el citosol, por fosforilación oxidativa en la mitocondria y por fotofosforilación en los cloroplastos.

Mientras la asimilación de nitrógeno, azufre y fósforo necesita de la formación de enlaces covalentes con compuestos carbonados, muchos cationes macro- y micronutrientes (K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Na^+, Zn^{2+}) simplemente forman complejos. Estos complejos mantienen su estabilidad por enlaces electrostáticos o por enlaces de coordinación.

La asimilación del hierro implica la formación de quelatos, reacciones de reducción y oxidación y la formación de complejos. Para almacenar grandes cantidades de hierro, las células vegetales sintetizan fitoferritina, una proteína que almacena hierro. Una función importante del hierro en las células vegetales es actuar como componentes redox en el sitio activo de enzimas, con frecuencia en un complejo hierro-porfirina. La inserción del hierro en un grupo porfirina se produce en la reacción catalizada por la ferroquelatasa.

Además de la utilización en la respiración, el oxígeno molecular puede asimilarse en el proceso de fijación del oxígeno, la adición directa de oxígeno a compuestos orgánicos. Este proceso está catalizado por enzimas conocidas como oxigenasas, que se clasifican en monooxigenasas y dioxigenasas.

La asimilación de nutrientes necesita grandes cantidades de energía para convertir compuestos inorgánicos estables de baja energía en compuestos orgánicos de alta energía. Una planta puede utilizar un cuarto de su energía para asimilar nitrógeno. Las plantas emplean la energía de la fotosíntesis para asimilar compuestos inorgánicos en un proceso conocido como fotoasimilación.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

12.1 Desarrollo de un nódulo radical
Los nódulos primordiales ocupan posiciones opuestas a los polos del protoxilema de los haces vasculares de raíz.

12.2 Medida de la fijación del nitrógeno
La reducción del acetileno se utiliza como medida indirecta de la reducción del nitrógeno.

12.3 La síntesis de metionina
La metionina se sintetiza en los plastos a partir de cisteína.

ENSAYO WEB

12.1 Relación entre una alta concentración de CO_2 y la fotoasimilación nitrógeno
En hojas de plantas que han crecido a elevadas concentraciones de CO_2, el CO_2 inhibe la fotoasimilación del nitrógeno al competir por el poder reductor.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Becker T. W., Perrot-Rechenmann C., Suzuki A. y Hirel B. (1993) Subcellular and immunocytochemical localization of the enzymes involved in ammonia assimilation in mesophyll and bundle-sheath cells of maize leaves. *Planta* 191: 129–136.

Bergmann L. y Rennenberg H. (1993) Glutathione metabolism in plants. En *Sulfur Nutrition and Assimilation in Higher Plants. Regulatory, Agricultural and Environmental Aspects*, L. J. De Kok, I. Stulen, H. Rennenberg, C. Brunold y W. E. Rauser, eds., SPB Acad. Pub., The Hague, Netherlands, págs. 109–123.

Bienfait H. F. y Van der Mark F. (1983) Phytoferritin and its role in iron metabolism. En *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*, D. A. Robb y W. S. Pierpoint, eds., Academic Press, New York, págs. 111–123.

Bloom A. J. (1997) Nitrogen as a limiting factor: Crop acquisition of ammonium and nitrate. En *Ecology in Agriculture*, L. E. Jackson, ed., Academic Press, San Diego, CA, págs. 145–172.

Bloom A. J., Smart D. R., Nguyen D. T. y Searles, P. S. (2002) Nitrogen assimilation and growth of wheat under elevated carbon dioxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 1730–1735.

Bloom A. J., Sukrapanna S. S. y Warner R. L. (1992) Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiol.* 99: 1294–1301.

Buchanan B., Gruissem W. y Jones R., eds. (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, MD.

Burris R. H. (1976) Nitrogen fixation. En *Plant Biochemistry*, 3ª ed., J. Bonner y J. Varner, eds., Academic Press, New York, págs. 887–908.

Campbell W. H. (1999) Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the gap between biochemistry and physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 277–303.

Carlson R. W., Forsberg L. S., Price N. P. J., Bhat U. R., Kelly T. M. y Raetz C. R. H. (1995) The structure and biosynthesis of *Rhizobium leguminosarum* lipid A. En *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 392: *Bacterial Endotoxins: Lipopolysaccharides from Genes to Therapy: Proceedings of the Third Conference of the International Endotoxin Society, held in Helsinki, Finland, on August 15-18, 1994*, J. Levin y col., eds., John Wiley and Sons, New York, págs. 25–31.

Denison R. F. y Harter B. L. (1995) Nitrate effects on nodule oxygen permeability and leghemoglobin. *Plant Physiol.* 107: 1355–1364.

Dixon R. O. D. y Wheeler C. T. (1986) *Nitrogen Fixation in Plants*. Chapman and Hall, New York.

Dong Z., Canny M. J., McCully M. E., Roboredo M. R., Cabadilla C. F., Ortega E. y Rodes R. (1994) A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems: A new role for the apoplast. *Plant Physiol.* 105: 1139–1147.

Etzler M. E., Kalsi G., Ewing N. N., Roberts N. J., Day R. B. y Murphy J. B. (1999) A nod factor binding lectin with apyrase activity from legume roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 5856–5861.

FAOSTAT. (2001) *Agricultural Data*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

Heidstra R. y Bisseling T. (1996) Nod factor-induced host responses and mechanisms of Nod factor perception. *New Phytol.* 133: 25–43.

Hell R. (1997) Molecular physiology of plant sulfur metabolism. *Planta* 202: 138–148.

Heytler P. G., Reddy G. S. y Hardy R. W. F. (1984) *In vivo* energetics of symbiotic nitrogen fixation in soybeans. En *Nitrogen Fixation and CO2 Metabolism*, P. W. Ludden e I. E. Burris, eds., Elsevier, New York, págs. 283–292.

Jones O. T. G. (1983) Ferrochelatase. En *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*, D. A. Robb y W. S. Pierpoint, eds., Academic Press, New York, págs. 125–144.

Kaiser W. M., Weiner H. y Huber S. C. (1999) Nitrate reductase in higher plants: A case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity. *Physiol. Plant.* 105: 385–390.

Kleinhofs A., Warner R. L., Lawrence J. M., Melzer J. M., Jeter J. M. y Kudrna D. A. (1989) Molecular genetics of nitrate reductase in barley. En *Molecular and Genetic Aspects of Nitrate Assimilation*, J. L. Wray y J. R. Kinghorn, eds., Oxford Science, New York, págs. 197–211.
Kuzma M. M., Hunt S. y Layzell D. B. (1993) Role of oxygen in the limitation and inhibition of nitrogenase activity and respiration rate in individual soybean nodules. *Plant Physiol.* 101: 161–169.
Lam H.-M., Coschigano K. T., Oliveira I. C., Melo-Oliveira R. y Coruzzi G. M. (1996) The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.* 47: 569–593.
Lazarowitz S. G. y Bisseling T. (1997) Plant development from the cellular perspective: Integrating the signals (Cellular Integration of Signaling Pathways in Plant Development, Acquafredda de Maratea, Italy, May 20–30, 1997). *Plant Cell* 9: 1884–1900.
Lea P. J., Blackwell R. D. y Joy K. W. (1992) Ammonia assimilation in higher plants. En *Nitrogen Metabolism of Plants* (Proceedings of the Phytochemical Society of Europe 33), K. Mengel y D. J. Pilbeam, eds., Clarendon, Oxford, págs. 153–186.
Leustek T. y Saito K. (1999) Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiol.* 120: 637–643.
Leustek T., Martin M. N., Bick J.-A. y Davies J. P. (2000) Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 141–165.
Lobreaux S., Massenet O. y Briat J.-F. (1992) Iron induces ferritin synthesis in maize plantlets. *Plant Mol. Biol.* 19: 563–575.
Ludwig R. A. y de Vries G. E. (1986) Biochemical physiology of *Rhizobium* dinitrogen fixation. En *Nitrogen Fixation*, Vol. 4: *Molecular Biology*, W. I. Broughton y S. Puhler, eds., Clarendon, Oxford, págs. 50–69.
Marschner H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2ª ed. Academic Press, London.
Mendel R. R. y Stallmeyer B. (1995) Molybdenum cofactor (nitrate reductase) biosynthesis in plants: First molecular analysis. En *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, Vol. 22: *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology: Proceedings of the VIIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Florence, Italy, 12–17 June, 1994*, M. Terzi, R. Cella y A. Falavigna, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 577–582.
Mylona P., Pawlowski K. y Bisseling T. (1995) Symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell* 7: 869–885.
Oaks A. (1994) Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Can. J. Bot.* 72: 739–750.
Ogren, W. L. (1984) Photorespiration: Pathways, regulation, and modification. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 415–442.

Pate J. S. (1983) Patterns of nitrogen metabolism in higher plants and their ecological significance. En *Nitrogen as an Ecological Factor: The 22nd Symposium of the British Ecological Society, Oxford 1981*, J. A. Lee, S. McNeill e I. H. Rorison, eds., Blackwell, Boston, págs. 225–255.
Pate J. S. y Layzell D. B. (1990) Energetics and biological costs of nitrogen assimilation. En *The Biochemistry of Plants*, Vol. 16: *Intermediary Nitrogen Metabolism*, B. J. Miflin y P. J. Lea, eds., Academic Press, San Diego, CA, págs. 1–42.
Phillips D. A. y Kapulnik Y. (1995) Plant isoflavonoids, pathogens and symbionts. *Trends Microbiol.* 3: 58–64.
Rees D. A. (1977) *Polysaccharide Shapes*. Chapman and Hall, London.
Reis V. M., Baldani J. I., Baldani V. L. D. y Dobereiner J. (2000) Biological dinitrogen fixation in Gramineae and palm trees. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19: 227–247.
Robinson J. M. (1988) Spinach leaf chloroplast carbon dioxide and nitrite photoassimilations do not compete for photogenerated reductant: Manipulation of reductant levels by quantum flux density titrations. *Plant Physiol.* 88: 1373–1380.
Rolfe B. G. y Gresshoff P. M. (1988) Genetic analysis of legume nodule initiation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39: 297–320.
Schlesinger W. H. (1997) *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change*, 2ª ed. Academic Press, San Diego, CA.
Siegel L. M. y Wilkerson J. Q. (1989) Structure and function of spinach ferredoxin-nitrite reductase. En *Molecular and Genetic Aspects of Nitrate Assimilation*, J. L. Wray y J. R. Kinghorn, eds., Oxford Science, Oxford, págs. 263–283.
Sivasankar S. y Oaks A. (1996) Nitrate assimilation in higher plants—The effect of metabolites and light. *Plant Physiol. Biochem.* 34: 609–620.
Stokkermans T. J. W., Ikeshita S., Cohn J., Carlson R. W., Stacey G., Ogawa T. y Peters N. K. (1995) Structural requirements of synthetic and natural product lipo-chitin oligosaccharides for induction of nodule primordia on *Glycine soja*. *Plant Physiol.* 108: 1587–1595.
Timmers A. C. J., Auriac M.–C. y Truchet G. (1999) Refined analysis of early symbiotic steps of the Rhizobium-Medicago: Interaction in relation with microtubular cytoskeleton rearrangements. *Development* 126: 3617-3628
Vande Broek A. y Vanderleyden J. (1995) Review: Genetics of the *Azospirillum*-plant root association. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14: 445–466.
van Rhijn P., Goldberg R. B. y Hirsch A. M. (1998) *Lotus corniculatus* nodulation specificity is changed by the presence of a soybean lectin gene. *Plant Cell* 10: 1233–1249.
Warner R. L. y Kleinhofs A. (1992) Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. *Physiol. Plant.* 85: 245–252.
Wray J. L. (1993) Molecular biology, genetics and regulation of nitrite reduction in higher plants. *Physiol. Plant.* 89: 607–612.

Capítulo 13

METABOLITOS SECUNDARIOS Y DEFENSA EN LAS PLANTAS

EN HÁBITATS NATURALES, las plantas están rodeadas por un gran número de enemigos potenciales. Casi todos los ecosistemas contienen una amplia variedad de bacterias, virus, hongos, nemátodos, arácnidos, insectos, mamíferos y otros animales herbívoros. Por su naturaleza, las plantas no pueden escapar de herbívoros y patógenos por lo que deben protegerse de otras formas.

La cutícula (una capa externa cerosa) y la peridermis (tejido protector secundario), además de dificultar la pérdida de agua, constituyen una barrera a la entrada de bacterias y hongos. Además, un grupo de compuestos vegetales conocidos como metabolitos secundarios defienden a las plantas de los herbívoros y microbios patógenos. Los compuestos secundarios pueden tener otras funciones importantes, como la de soporte estructural, en el caso de la lignina, o pigmentos, en el caso de las antocianinas.

En este capítulo, estudiaremos algunos de los mecanismos por los cuales las plantas se protegen de los herbívoros y microbios patógenos. Empezaremos con un análisis sobre las clases de compuestos que proporcionan una superficie protectora a la planta: cutina, suberina y ceras. A continuación describiremos las estructuras y rutas biosintéticas de los tres grupos principales de metabolitos secundarios: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno. Finalmente, examinaremos las respuestas específicas de la planta al ataque por patógenos, el control genético de las interacciones planta-patógeno y los procesos de señalización asociados con la infección.

CUTINA, CERAS Y SUBERINA

Todas las partes de la planta expuestas a la atmósfera están cubiertas por capas de material lipídico que reducen la pérdida de agua y ayudan a bloquear la entrada de

hongos patógenos y bacterias. Los principales constituyentes de estas cubiertas son cutina, suberina y ceras. La cutina se encuentra en la mayoría de las partes aéreas de la planta; la suberina está presente en las partes subterráneas, tallos leñosos y heridas cicatrizadas. Las ceras están asociadas con la cutina y la suberina.

Cutinas, ceras y suberinas están formadas por compuestos hidrofóbicos

La **cutina** es una macromolécula, un polímero que consta de muchos ácidos grasos de cadena larga que están unidos entre sí por enlaces tipo éster, formando una red tridimensional rígida. La cutina está formada por ácidos grasos 16:0 y 18:1[1] con grupos hidroxilo o epóxido situados bien en la parte media de la cadena, bien en el extremo opuesto al grupo carboxilo (Figura 13.1A).

(A) Ácidos grasos hidroxilados que polimerizan para formar la cutina:

$HOCH_2(CH_2)_{14}COOH$

$CH_3(CH_2)_8CH(OH)(CH_2)_5COOH$

(B) Componentes comunes de las ceras:

Alcanos de cadena lineal	$CH_3(CH_2)_{27}CH_3$
	$CH_3(CH_2)_{29}CH_3$
Éster de ácido graso	$CH_3(CH_2)_{22}C(=O)—O(CH_2)_{25}CH_3$
Ácido graso de cadena larga	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$
Alcohol de cadena larga	$CH_3(CH_2)_{24}CH_2OH$

(C) Ácidos grasos hidroxilados que polimerizan junto con otros compuestos para formar la suberina:

$HOCH_2(CH_2)_{14}COOH$

$HOOC(CH_2)_{14}COOH$ (un ácido dicarboxílico)

Figura 13.1. Constituyentes de (A) cutina, (B) ceras y (C) suberina.

1. Recuérdese del capítulo 11 que la nomenclatura de los ácidos grasos es X:Y, donde X es el número de carbonos e Y es el número de dobles enlaces *cis*.

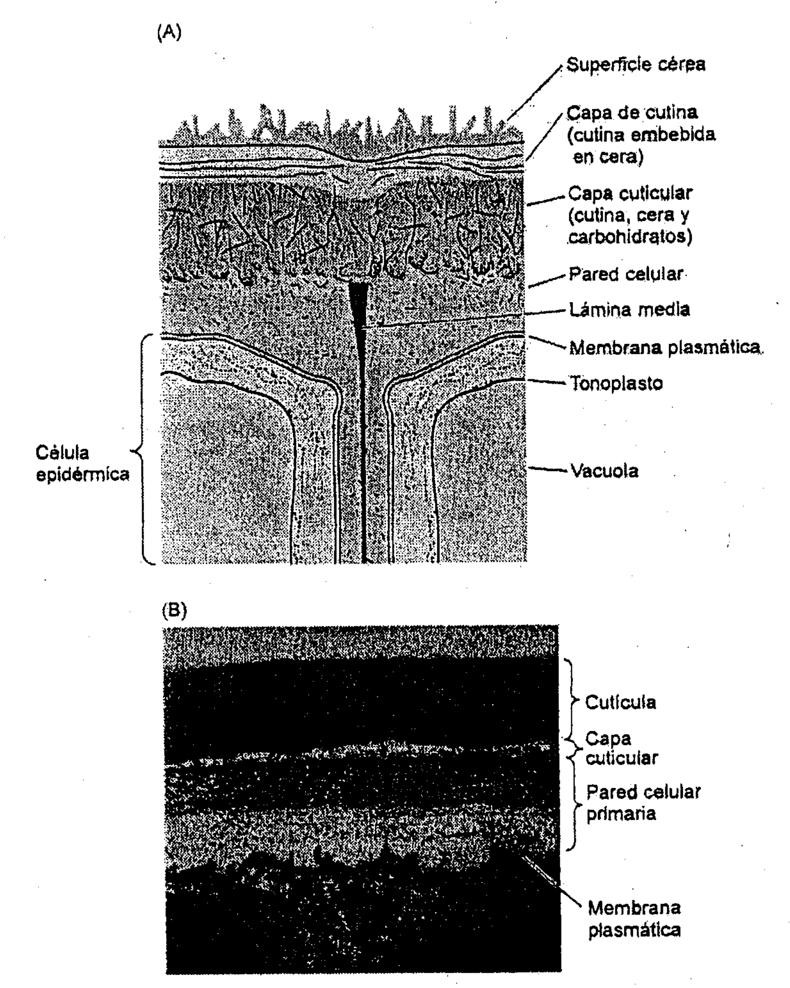


Figura 13.2 (A) Estructura de la cutícula vegetal, el recubrimiento protector de la epidermis de hojas y tallos jóvenes en la etapa de plena expansión de las hojas. (B) Micrografía electrónica de la cutícula de la célula de una hoja joven (*Lamium* spp.), mostrando las capas de cutícula indicadas en A, excepto las superficies céreas, que no son visibles (51.000x). (A, según Jeffree 1996; B según Gunning y Steer 1996).

La cutina es el constituyente principal de la **cutícula,** una estructura multicapa que cubre las paredes celulares externas de la epidermis en las partes aéreas de todas las plantas herbáceas (Figura 13.2). La cutícula está compuesta por una capa superior de cera, una capa media gruesa que contiene cutina embebida en la cera (la cutícula propiamente dicha) y una capa inferior formada de cutina y cera, mezclada con pectinas,

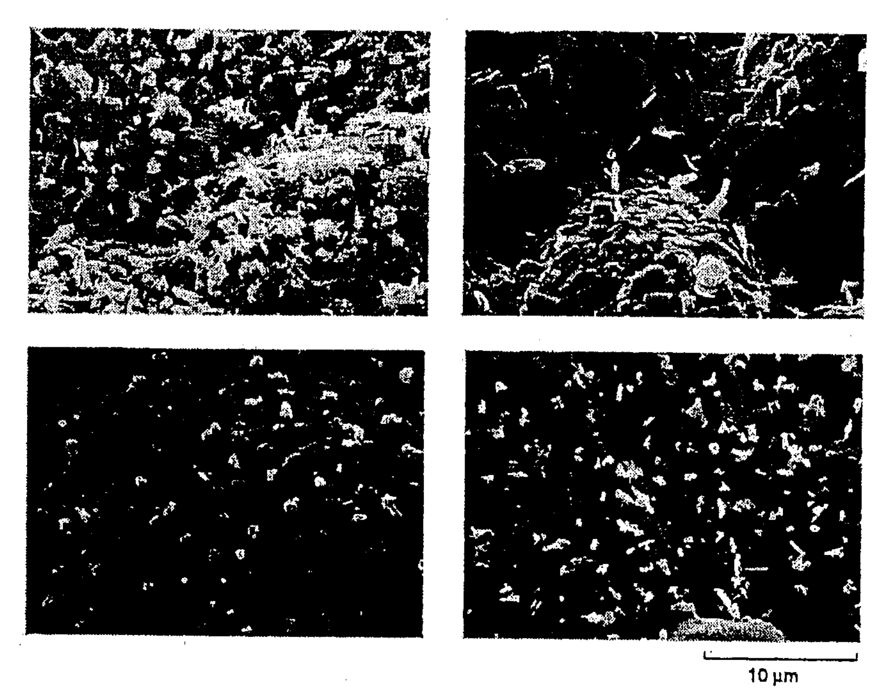


Figura 13.3 Depósitos superficiales de cera en la capa superior de la cutícula, que adoptan diferentes estructuras. Estas micrografías electrónicas de barrido muestran las superficies foliares de dos líneas diferentes de *Brassica oleracea*, que difieren en la estructura cristalina de la cera. (Según Eigenbrode y col. 1991, cortesía de S.D. Eigenbrode, con el permiso de la Sociedad Entomológica Americana).

celulosas y otros carbohidratos de la pared celular (la capa cuticular). Investigaciones recientes sugieren que, además de la cutina, la cutícula puede contener un segundo polímero lipídico, formado por largas cadenas hidrocarbonadas que han sido denominadas *cutano* (Jeffree 1996).

Las **ceras** no son macromoléculas, sino mezclas complejas de lípidos de cadena larga extremadamente hidrófoba. Los componentes más comunes de las ceras son alcanos de cadena lineal y alcoholes de 25 a 35 átomos de carbono (véase la figura 13.1B). También se han encontrado aldehídos de cadena larga, cetonas, ésteres y ácidos grasos libres. Las ceras de la cutícula son sintetizadas por las células epidérmicas y secretadas como gotas que cruzan los poros de la pared celular por un mecanismo desconocido. La cubierta superior de la cutícula cerosa con frecuencia cristaliza en un complicado patrón de varas, tubos o placas (Figura 13.3).

La **suberina** es un polímero cuya estructura es muy poco conocida. Al igual que la cutina, la suberina está formada por hidroxi- o epoxi- ácidos grasos unidos por en-

laces tipo éster. Sin embargo, la suberina parece diferir de la cutina en que contiene ácidos dicarboxílicos (véase la figura 13.1C), compuestos de cadena más larga y una parte significativa de compuestos fenólicos como parte de su estructura.

La suberina es un constituyente de la pared celular localizada en muchas partes de la planta. Ya hemos indicado su presencia en la banda de Caspary de la endodermis de la raíz, donde forma una barrera entre el apoplasto del córtex y el cilindro vascular (véase el capítulo 4). La suberina es el principal componente de las paredes celulares exteriores de todos los órganos subterráneos y de las células de corcho de la **peridermis**, el tejido que forma la corteza exterior de los troncos y las raíces durante el crecimiento secundario de las plantas leñosas. La suberina también se forma en las zonas de abscisión de la hoja y en las partes áreas dañadas por enfermedades o heridas.

Cutinas, ceras y suberinas ayudan a reducir la transpiración y la invasión por patógenos

La cutina, la suberina y sus ceras asociadas forman barreras entre la planta y su entorno que sirven para mantener el agua dentro y a los patógenos fuera. La cutícula es muy efectiva limitando la pérdida de agua en las partes aéreas de la planta, aunque no bloquea completamente la transpiración, ya que se pierde algo de agua incluso con los estomas cerrados. El grosor de la cutícula varía dependiendo de las condiciones ambientales. Las especies vegetales nativas de zonas áridas tienen cutículas más gruesas que las de plantas de regiones húmedas, aunque estas últimas con frecuencia desarrollan cutículas gruesas cuando crecen en ambientes secos.

La cutícula y el tejido suberificado son importantes en la exclusión de hongos y bacterias, aunque en la resistencia a patógenos no parecen ser tan importantes como otras defensas que analizaremos más adelante. Muchos hongos penetran directamente a través de la superficie vegetal de forma mecánica. Otros producen cutinasa, un enzima que hidroliza la cutina y facilita así la entrada en la planta.

METABOLITOS SECUNDARIOS

Las plantas producen una gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento y desarrollo. Estas sustancias se conocen con el nombre de **metabolitos secundarios**, *productos secundarios* o *productos naturales*. Los metabolitos secundarios no tienen función reconocida o directa en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de solutos, síntesis de

proteínas, asimilación de nutrientes, diferenciación o formación de carbohidratos, proteínas y lípidos analizados más adelante en este libro.

Los metabolitos secundarios también difieren de los metabolitos primarios (aminoácidos, nucleótidos, azúcares, acil lípidos) en que tienen una distribución restringida en el reino vegetal. Es decir, un metabolito secundario determinado se encuentra con frecuencia en una sola especie vegetal o grupo de especies relacionadas, mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el reino vegetal.

Los metabolitos secundarios defienden a las plantas de herbívoros y patógenos

Durante muchos años, el significado adaptativo de muchos metabolitos secundarios era desconocido. Se creía que estos compuestos eran sencillamente productos finales del metabolismo sin función o metabolitos de desecho. El estudio de estos compuestos fue iniciado por los químicos orgánicos del siglo diecinueve y principios del siglo veinte, quienes se interesaron en estas sustancias y las llamaron «productos naturales», debido a su importancia como drogas, venenos, sabores y materias industriales.

Más recientemente, se descubrió que muchos metabolitos secundarios tenían importantes funciones ecológicas en las plantas:

- Protegen a las plantas de la ingestión por herbívoros y de la infección por patógenos microbianos.
- Sirven como atrayentes de polinizadores y dispersadores de semillas y como agentes en la competencia planta-planta.

En lo que queda de este capítulo analizaremos los principales tipos de metabolitos secundarios vegetales, su biosíntesis y lo que se conoce sobre su función en la planta, sobre todo, en lo referente a sus funciones de defensa.

Las defensas vegetales son un producto de la evolución

Podemos comenzar preguntándonos cómo llegaron las plantas a tener defensas. De acuerdo con los biólogos evolucionistas, las defensas vegetales deben haber surgido a través de los fenómenos de mutación hereditaria, selección natural y cambios evolutivos. Mutaciones al azar en las rutas metabólicas básicas darían lugar a la aparición de nuevos compuestos, que pudieron ser tóxicos o disuasorios para los herbívoros y microbios patógenos.

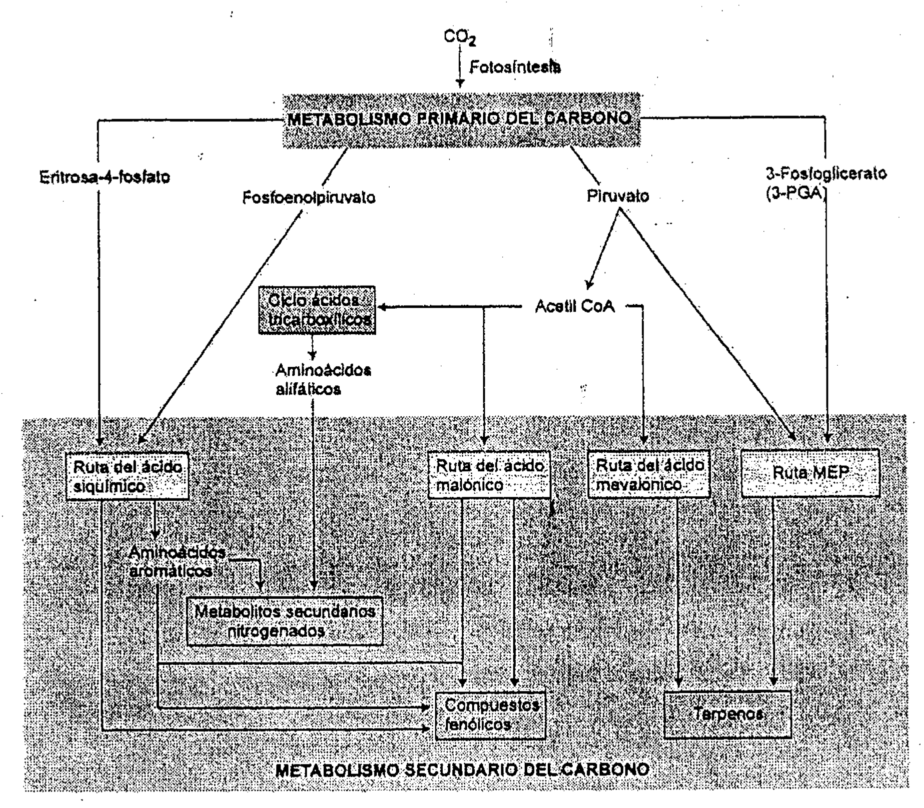


Figura 13.4 Esquema simplificado de las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interrelaciones con el metabolismo primario.

Como estos compuestos no eran tóxicos para la propia planta y el coste metabólico para producirlos no era excesivo, representaron una ventaja reproductiva para las plantas que los poseían frente aquellas que no poseían estas defensas. Así, las plantas con defensas generaron una descendencia mayor que las plantas sin estas defensas, y transmitieron estos caracteres a las generaciones siguientes.

El ajuste reproductivo que supusieron estos compuestos de defensa al salvaguardar las plantas de herbívoros, bacterias y hongos, también las hizo indeseables como alimento para los humanos. Muchos cultivos vegetales importantes han sido seleccionados artificialmente para producir niveles mínimos de estos compuestos, lo que ha provocado también que sean más susceptibles a los insectos y las enfermedades.

Los metabolitos secundarios se pueden dividir en tres grupos principales

Los metabolitos secundarios vegetales pueden dividirse en tres grupos químicamente diferentes: terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno. La figura 13.4 muestra un esquema simplificado de las rutas metabólicas implicadas en la biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interconexiones con el metabolismo primario.

TERPENOS

Los **terpenos**, o *terpenoides*, constituyen el mayor grupo de productos secundarios. Los diferentes compuestos de esta clase son generalmente insolubles en agua. Son biosintetizados a partir de acetil CoA o de intermediarios glicolíticos. Después de analizar la biosíntesis de los terpenos, examinaremos cómo actúan para repeler a los herbívoros y cómo los herbívoros burlan los efectos tóxicos de los terpenos.

Los terpenos se forman por la fusión de unidades de isopreno de cinco carbonos

Todos los terpenos derivan de la unión de elementos de cinco carbonos que tienen el esqueleto carbonado ramificado del isopentano:

$$(H_3C)_2CH-CH_2-CH_3$$

Los elementos estructurales básicos de los terpenos se conocen como **unidades de isopreno** porque los terpenos pueden descomponerse a elevadas temperaturas dando isopreno:

$$H_3C(H_2C=)C-CH=CH_2$$

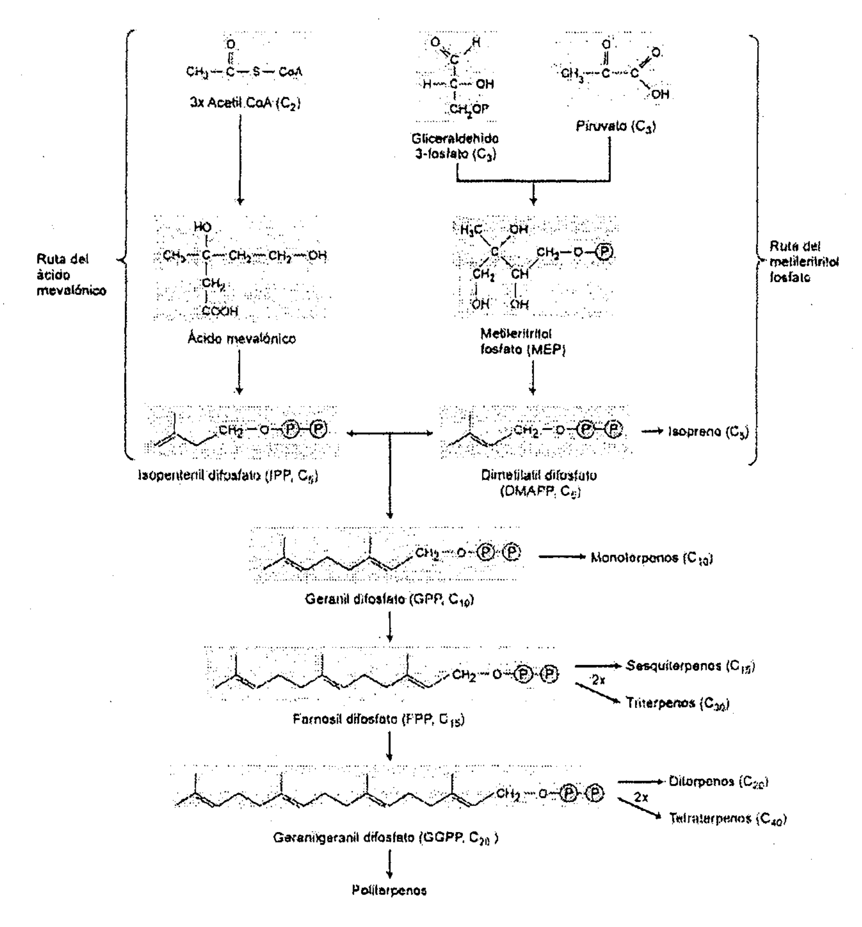


Figura 13.5 Biosíntesis de terpenos. Las unidades básicas de 5 carbonos de los terpenos pueden sintetizarse por dos rutas diferentes. Los intermediarios fosforilados, IPP y DMAPP, se combinan para formar terpenos de 10, de 15 carbonos y mayores.

Así, en ocasiones a los terpenos se los conoce como *isoprenoides*.

Los terpenos se clasifican por el número de unidades de cinco carbonos que contienen, aunque debido a las numerosas modificaciones metabólicas se puede hacer difícil reconocer las unidades originales de cinco carbonos. Los terpenos de diez carbonos, que contienen dos unidades C_5, se denominan *monoterpenos*, los terpenos de 15 carbonos (3 unidades C_5) son *sesquiterpenos*; y los terpenos que tienen 20 carbonos (4 unidades C_5) son *diterpenos*. Los terpenos más grandes incluyen *triterpenos* (30 carbonos), *tetraterpenos* (40 carbonos) y politerpenoides ($[C_5]_n$, cuando n>8).

Existen dos rutas para la biosíntesis de los terpenos

Los terpenos son biosintetizados a partir de metabolitos primarios por al menos dos rutas diferentes. En la **ruta del ácido mevalónico**, tres moléculas de acetil CoA se condensan paso a paso para formar ácido mevalónico (Figura 13.5). Este intermediario clave de seis carbonos es pirofosforilado, descarboxilado y deshidratado a continuación para formar **isopentenil difosfato (IPP[2])**.

El IPP es la unidad básica activada de cinco carbonos de los terpenos. Recientemente se ha descubierto que el IPP también se puede formar como intermediario de la glicólisis o del ciclo fotosintético de reducción del carbono a través de una serie de reacciones independientes llamadas **ruta del fosfato de metileritritol (MEP)** que funciona en cloroplastos y otros plastos (Lichtenthaler 1999). Aunque no se han determinado bien todos los detalles, parece que el *gliceraldehído-3-fosfato* y un derivado de dos carbonos del *piruvato* se combinan para generar un intermediario que finalmente es convertido en IPP.

El isopentenil difosfato y su isómero se combinan para formar terpenos mayores

El isopentenil difosfato y su isómero, el dimetilalil difosfato (DMAPP), son los percursores activados de cinco carbonos en la biosíntesis de terpenos, que se combinan para formar moléculas mayores. En primer lugar, el IPP y DMAPP reaccionan para formar geranil difosfato (GPP), el precursor de diez carbonos de casi todos los monoterpenos (véase la figura 13.5). El GPP puede unirse a otra molécula de IPP y formar el farnesil difosfato (FPP), compuesto de 15 carbonos, el precursor de casi todos los sesquiterpenos. La adición de otra molécula de IPP geenra un compuesto de 20 carbonos, el geranilgeranil difosfato (GGPP), precursor de los diterpenos. Finalmente, FPP y GGPP pueden dimerizar para formar triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}), respectivamente.

Algunos terpenos tienen funciones en el crecimiento y el desarrollo

Algunos terpenos tienen una función bien caracterizada en el crecimiento vegetal o en el desarrollo y, por ello, pueden ser considerados metabolitos primarios más que secundarios. Por ejemplo, las giberelinas, un grupo importante de hormonas vegetales, son diterpenos. Los esteroles, derivados de los triterpenos, son componentes esenciales de la membrana celular, a la que estabilizan interactuando con los fosfolípidos (véase el capítulo 11). Los carotenoides rojos, naranjas y amarillos son tetraterpenos que actúan como pigmentos complementarios en la fotosíntesis y protegen a los tejidos fotosintéticos de la fotooxidación (véase el capítulo 7). La hormona ácido abscísico (véase el capítulo 23) es un terpeno C_{15} producido por la degradación de un precursor carotenoide.

2. El IPP es la abreviación de *piro*fosfato de isopentenilo, el nombre anterior de este compuesto. Los otros intermediarios pirofosforilados en la ruta también se les conoce como *di*fosfatos.

Los alcoholes politerpénicos de cadena larga conocidos como *dolicoles* parecen ser los transportadores de azúcares en la pared celular y en la síntesis de glicoproteínas (véase el capítulo 15). Cadenas laterales derivadas de terpenos, como por ejemplo la cadena lateral de fitol de la clorofila (véase el capítulo 7), ayudan a anclar ciertas moléculas a las membranas. Así pues, varios terpenos tienen funciones primarias importantes en la planta. Sin embargo, la mayor parte de los terpenos vegetales son metabolitos secundarios y se sugiere que están involucrados en tareas de defensa.

Los terpenos defienden a muchas plantas de los herbívoros

Los terpenos son toxinas y repelentes para un gran número de insectos y mamíferos que se alimentan de plantas, de forma que parece que desempeñan un importante papel defensivo en el reino vegetal (Gershenzon y Croteau 1992). Por ejemplo, los ésteres de monoterpenos llamados **piretroides** que se encuentran en las hojas y flores de especies de *Chrysantenum* tienen una actividad insecticida muy elevada. Tanto los piretroides naturales como los sintéticos son componentes habituales de los insecticidas comerciales debido a su baja persistencia en el ambiente y a su mínima toxicidad para los mamíferos.

En coníferas como el pino y el abeto, los monoterpenos se acumulan en los conductos de resina de las acículas, ramitas y troncos. Estos compuestos son tóxicos para un gran número de insectos, incluyendo el escarabajo de la corteza, plaga muy importante para las especies de coníferas de todo el mundo. Muchas coníferas responden a la invasión de este escarabajo produciendo una cantidad adicional de monoterpenos (Trapp y Croteau 2000).

Muchas plantas contienen mezclas de monoterpenos y sesquiterpenos volátiles, llamados **aceites esenciales**, que producen un olor característico de sus hojas. La menta, el limón, la albahaca y la salvia son ejemplos de plantas que contienen aceites esenciales. El principal monoterpeno constituyente del aceite de menta es el mentol y el del limón es el limoneno (Figura 13.6).

Los aceites esenciales son bien conocidos por sus propiedades repelentes de insectos. Con frecuencia se encuentran en los pelos glandulares que se proyectan des-

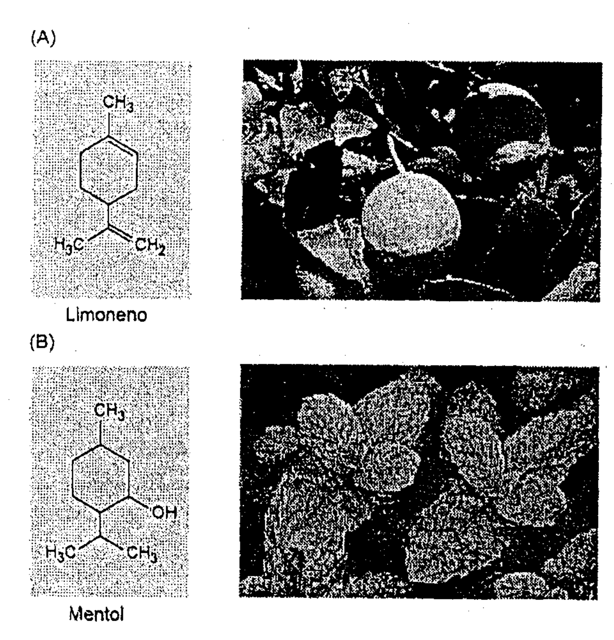


Figura 13.6 Estructuras del limoneno (A) y mentol (B). Estos dos monoterpenos actúan como defensas contra insectos y otros organismos que se alimentan de estas plantas. (A, foto © Calvin Larsen/Photo Researchers, Inc.; B, foto © David Sieren/Visuals Unlimited).

de la epidermis y sirven para «prevenir» de la toxicidad de la planta, actuando como un potencial repelente de herbívoros, antes de haber efectuado un mordisco de prueba. En los pelos glandulares, los terpenos se almacenan en un espacio extracelular modificado de la pared celular (Figura 13.7). Los aceites esenciales pueden extraerse de la planta por destilación por vapor y son comercialmente importantes como aromas alimentarios y para fabricar perfumes.

Investigaciones recientes han revelado una interesante peculiaridad en el papel de los terpenos volátiles para la protección de la planta. En maíz, algodón, tabaco silvestre y otras especies, ciertos monoterpenos y sesquiterpenos son producidos y emitidos una vez el insecto ha iniciado su ataque. Estas sustancias repelen insectos herbívoros ovíparos y atraen a sus enemigos naturales, como insectos predadores y parásitos, que matan a los insectos herbívoros, ayudándoles a minimizar los daños (Turlings y col. 1995; Kessler y Baldwin 2001). Es decir, los terpenos volátiles no sólo suponen un método de defensa *per se*, sino que proporcionan una llamada para ser defendidas por otros organismos. La capacidad de las plantas de atraer a los enemigos naturales de los insectos herbívoros se presenta como una nueva posibilidad en el control ecológico de plagas (véase el **ensayo web 13.1**).



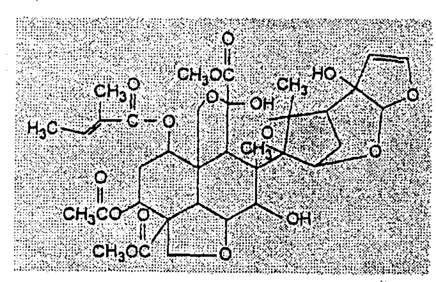
Figura 13.7 Los monoterpenos y sesquiterpenos se encuentran normalmente en los pelos glandulares de la superficie vegetal. Esta micrografía electrónica de barrido muestra un pelo glandular de una hoja joven de *Balsamorhiza sagittata*. Se cree que los terpenos se sintetizan en las células del pelo y se almacenan en el engrosamiento superior. Esta caperuza es un espacio extracelular que se forma cuando la cutícula y una parte de la pared celular son separadas del resto de la célula (1105×). (©J.N.A./Biological Photo Service).

Entre los terpenos no volátiles antiherbívoros se encuentran los **limonoides**, un grupo de triterpenos (C_{30}), conocidos como las sustancias amargas de los cítricos. Quizás el más poderoso de los repelentes de insectos sea la *azadiractina* (Figura 13.8A), un limonoide complejo presente en el árbol *Azadirachita indica* de África y Asia. La azadiractina es un repelente alimentario contra algunos insectos a dosis tan bajas como 50 partes por billón y que provocan numerosos efectos tóxicos (Aerts y Mordue 1997). Tiene un considerable potencial como insecticida comercial para el control de plagas debido a su baja toxicidad en mamíferos. Varias preparaciones que contienen azadiractina están siendo comercializadas en Norte América e India.

Las **fitoecdisonas**, aisladas inicialmente del helecho común, *Polypodium vulgare*, son un grupo de esteroides vegetales con la misma estructura básica que las hormonas de la muda de insectos (Figura 13.8). La ingestión de fitoecdisonas por los insectos interrumpe la muda y otros procesos de desarrollo, teniendo con frecuencia consecuencias letales.

Los triterpenos activos contra herbívoros vertebrados incluyen los cardenólidos y las saponinas. Los **cardenólidos** son glicósidos (compuestos con uno o más azúcares unidos) que confieren un sabor amargo y son extremadamente tóxicos en animales superiores. En el hombre sus efectos son dramáticos en el músculo del corazón por su acción sobre las Na^+/K^+-ATPasas. En dosis cuidadosamente reguladas, ralen-

(A) Azadiractina, un limonoide





(B) α-Ecdisona, una hormona de muda en insectos

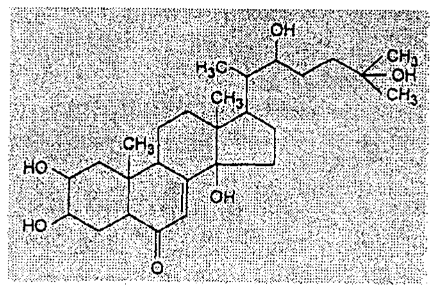




Figura 13.8 Estructuras de dos triterpenos, azadiractina (A) y α-ecdisona (B), poderosos disuasivos de insectos herbívoros. (A, foto © Inga SDECE/Visuals Unlimited; B, foto © Wally Eberhart/Visuals Unlimited).

tizan y refuerzan el latido del corazón. Los cardenolípidos extraídos de especies de dedalera (*Digitalis*) son recetados a millones de pacientes para el tratamiento de enfermedades cardiacas (véase el **tema web 13.1**).

Las **saponinas** son esteroides y glicósidos triterpénicos, y su nombre se debe a sus propiedades jabonosas. La presencia en una única molécula de elementos solubles en lípidos (el esteroide o triterpeno) y en agua (el azúcar) confiere a las saponinas propiedades detergentes, formando una cubierta jabonosa cuando se agitan en agua. Se cree que la toxicidad de las saponinas es debida a su capacidad para formar complejos con esteroles. Las saponinas pueden interferir con la absorción de esteroles en el aparato digestivo o bien romper membranas celulares una vez incorporadas al torrente sanguíneo.

COMPUESTOS FENÓLICOS

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol, un grupo funcional hidroxilo en un anillo aromático:

—OH

Estas sustancias se clasifican como compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos de las plantas forman un grupo químicamente heterogéneo de unos 10.000 compuestos: algunos son solubles sólo en solventes orgánicos, otros son ácidos carboxílicos y glicósidos solubles en agua, mientras que otros son grandes polímeros muy insolubles.

De acuerdo con su diversidad química, los fenoles tienen funciones muy diversas en las plantas. Después de una breve introducción acerca de la biosíntesis de los fenoles, analizaremos algunos grupos de compuestos fenólicos y lo que se conoce acerca de su función en la planta. Muchos tienen papeles en la defensa de las plantas contra herbívoros o patógenos. Otros participan en el soporte mecánico, en la atracción de polinizadores y dispersantes de frutos, en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas competidoras próximas.

La fenilalanina es un intermediario en la biosíntesis de la mayoría de compuestos fenólicos de las plantas

Los compuestos fenólicos de las plantas son biosintetizados en diferentes rutas y, por ello, constituyen un grupo heterogéneo desde un punto de vista metabólico. Existen dos rutas básicas implicadas: la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico (Figura 13.9). La ruta del ácido siquímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría fenoles en las plantas. La vía del ácido malónico, aunque es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, es poco empleada en plantas superiores.

La **ruta del ácido siquímico** convierte los precursores de carbohidratos derivados de la glicólisis y de la ruta de las pentosas fosfato en aminoácidos aromáticos (véase el **tema web 13.2**) (Herrmann y Weaver 1999). Uno de los intermediarios de la ruta es el ácido siquímico, que ha dado su nombre a toda la serie de reacciones. El glifosato, conocido herbicida de amplio espectro comercialmente disponible como Roundup®, mata a las plantas porque bloquea una etapa en esta ruta (véase el capítulo 2 en la página web). La ruta del ácido siquímico está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales. Los animales no son capaces de sintetizar los aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina y triptófano, por lo que son nutrientes esenciales en sus dietas.

La mayor parte de los compuestos fenólicos de las plantas derivan de la fenilalanina por la eliminación de una molécula de amonio para formar ácido cinámico (Figura 13.10). Esta reacción está catalizada por la **fenilalanina amonio liasa** (PAL), posi-

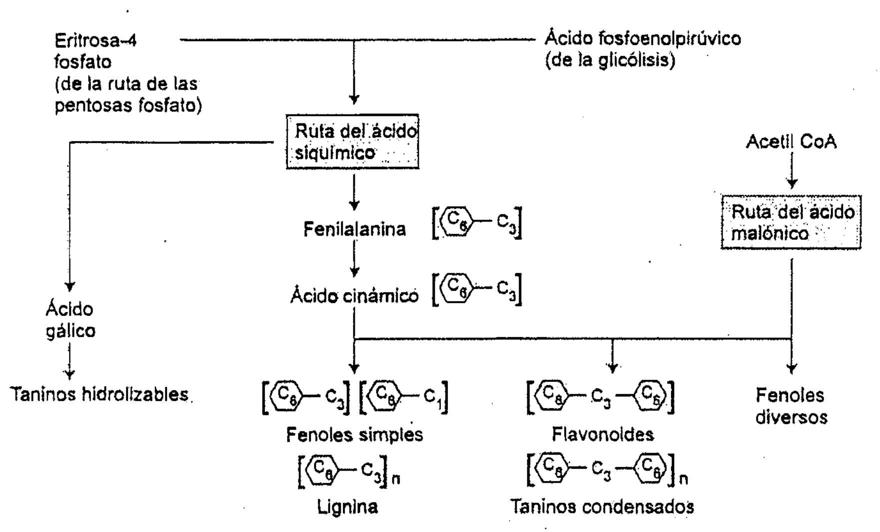


Figura 13.9 Los compuestos fenólicos se biosintetizan en las plantas por varias rutas diferentes. En plantas superiores, la mayoría de los compuestos fenólicos derivan, al menos en parte, de la fenilalanina, un producto de la ruta del ácido siquímico. Las fórmulas entre corchetes indican la ordenación básica de los esqueletos carbonados:

C_6

indica un anillo de benceno, y C_3 es una cadena de tres carbonos. Para más detalle de la ruta de la fenilalanina véase la figura 13.10.

blemente el enzima más estudiado del metabolismo secundario. La PAL está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y el secundario, por eso, la reacción que cataliza es una etapa reguladora importante en la formación de muchos compuestos fenólicos.

La actividad PAL se ve incrementada por factores ambientales, como niveles de nutrientes bajos, luz (por su efecto sobre el fitocromo) e infección fúngica. El punto de control parece ser el inicio de la transcripción. La invasión fúngica, por ejemplo, inicia la transcripción del RNA mensajero que codifica la PAL, aumentando así su concentración en la planta, lo que estimula la síntesis de compuestos fenólicos.

La regulación de la actividad PAL en las plantas se hace más compleja debido a la existencia, en muchas especies, de múltiples genes que codifican para la PAL, algunos de los cuales se expresan sólo en tejidos específicos o en ciertas condiciones ambientales (Logemann y col. 1995).

Las reacciones posteriores a la catalizada por la PAL dan lugar a la adición de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. El ácido *trans*-cinámico, el ácido p-cumárico,

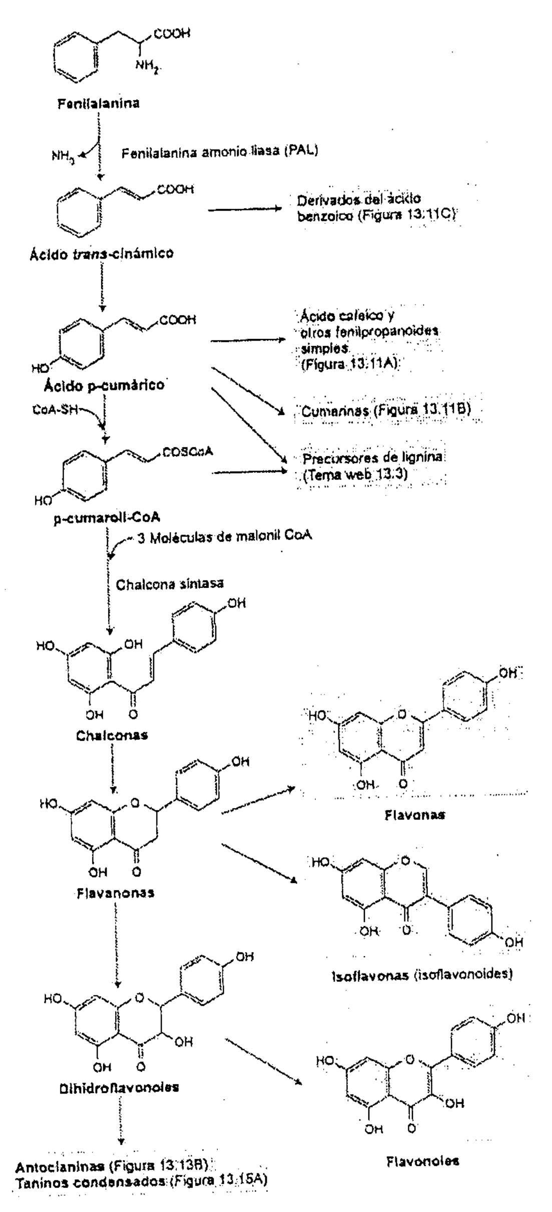
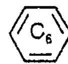


Figura 13.10 Esquema de la biosíntesis de fenoles a partir de la fenilalanina. La formación de muchos fenoles vegetales, incluidos los fenilpropanoides simples, cumarinas, derivados del ácido benzoico, ligninas, antocianinas, isoflavonas, taninos condensados y otros flavonoides, se inicia con la fenilalanina.

y sus derivados son compuestos fenólicos simples llamados **fenilpropanoides** porque contienen un anillo de benceno:



y una cadena lateral de tres carbonos. Los fenilpropanoides son unidades básicas para la formación de compuestos fenólicos más complejos y serán analizados más adelante en este capítulo.

Tras haberse determinado la ruta biosintética de la mayoría de los compuestos fenólicos, los investigadores han centrado su atención en el estudio de la regulación de estas rutas. En algunos casos, enzimas específicos, como la PAL, son importantes en el control del flujo a través de la ruta. Se han descrito varios factores de transcripción que regulan el metabolismo de fenoles en los vegetales al unirse a la región promotora de ciertos genes de biosíntesis y activar su transcripción. Algunos de estos factores activan la transcripción de grandes grupos de genes (Jin y Martin 1999).

Algunos compuestos fenólicos simples son activados por la luz ultravioleta

Los compuestos fenólicos simples están muy extendidos en las plantas vasculares y parecen funcionar de distintas maneras. Sus estructuras incluyen las siguientes:

- Los fenilpropanoides simples, como el ácido *trans*-cinámico, el ácido *p*-cumárico y sus derivados, como el ácido cafeico, que tienen un esqueleto carbonado básico tipo fenilpropanoide (Figura 13.11A):

C_6—C_3

- Las lactonas fenilpropanoides (ésteres cíclicos) llamados *cumarinas*, también con un esqueleto fenilpropanoide (véase la figura 13.11B).
- Los derivados del ácido benzoico tienen un esqueleto C_6—C_1 formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral (véase la figura 13.11C) (véase también la figura 13.10).

(A)

Ácido cafeico Ácido ferúlico

Fenilpropanoides simples [C_6—C_3]

(B)

Anillo furano

Umbeliferina, una cumarina simple

Psoraleno, una furanocumarina

Cumarinas [C_6—C_3]

(C)

Vainillina Ácido salicílico

Derivados del ácido benzoico [C_6—C_1]

Figura 13.11 Los compuestos fenólicos simples tienen una gran diversidad de funciones en plantas. (A) El ácido cafeico y el ácido ferúlico pueden ser liberados al suelo e inhibir el crecimiento de las plantas vecinas. (B) El psoraleno es una furocumarina que muestra fototoxicidad a insectos herbívoros. (C) El ácido salicílico es un regulador del crecimiento vegetal que está implicado en la resistencia sistémica de la planta a patógenos.

Como ocurre con otros muchos productos secundarios, las plantas pueden sintetizar productos más complejos, a partir del esqueleto carbonado de los compuestos fenólicos simples.

Muchos compuestos fenólicos simples tienen funciones importantes en las plantas como defensas frente a insectos, herbívoros y hongos. De especial interés es la fototoxicidad de ciertas cumarinas, llamadas **furanocumarinas,** que tienen unido un anillo de furano (véase la figura 13.11B).

Estos compuestos no son tóxicos hasta que son activados por la luz. La luz del sol en la región ultravioleta A (UV-A) (320-400 nm) provoca que algunas furanocumarinas pasen al estado electrónico de mayor energía. Las furanocumarinas activadas pueden introducirse en la doble hélice del DNA y unirse a las bases pirimidínicas, citosina y timina, bloqueando así la transcripción y la reparación, provocando la muerte de la célula.

Las furanocumarinas fototóxicas son especialmente abundantes en miembros de la familia Umbelíferae, incluyendo especies como el apio, la chirivía y el perejil. En apio, el nivel de estos compuestos puede aumentar hasta 100 veces si la planta se somete a estrés o a enfermedades. Se ha descrito la aparición más o menos súbita de erupciones cutáneas en los recolectores de apio y algunos vendedores de verduras, debido al manejo de apios estresados o enfermos. Algunos insectos se han adaptado a sobrevivir en plantas que sintetizan furanocumarinas y otros compuestos fototóxicos viviendo en telarañas o bien en hojas enrolladas, donde no reciben las longitudes de onda activadoras (Sandberg y Berenbaum 1989).

La liberación de compuestos fenólicos al suelo limita el crecimiento de otras plantas

Las plantas liberan al entorno una gran variedad de productos primarios y secundarios por las hojas, las raíces y los restos que caen al suelo. La investigación de los efectos de estos compuestos en las plantas vecinas es lo que se conoce como **alelopatía.** Si una planta puede reducir el crecimiento de las plantas vecinas por liberación de productos químicos al suelo, puede aumentar su disponibilidad de luz, de agua y de nutrientes y, por tanto, su ventaja evolutiva. En general, el término de *alelopatía* se ha aplicado a los efectos dañinos de las plantas sobre sus vecinas, aunque la definición precisa incluye también los efectos beneficiosos.

Los fenilpropanoides simples y derivados del ácido benzoico son descritos frecuentemente como poseedores de una actividad alelopática. Compuestos como el ácido cafeico y el ácido ferúlico (véase la figura 13.11A) se encuentran en el suelo en cantidades apreciables y, en experimentos de laboratorio, se ha demostrado su papel como inhibidores de la germinación y del crecimiento de muchas plantas (Inderjit y col. 1995).

A pesar de estos resultados, la importancia de la alelopatía en los ecosistemas naturales es controvertida. Muchos científicos dudan que la alelopatía sea un factor significativo en las interacciones planta-planta, debido a la dificultad de obtener pruebas evidentes de este fenómeno. Es fácil demostrar que, extractos o compuestos purificados de una planta pueden inhibir el crecimiento de otra planta en experimentos de laboratorio, pero es muy difícil demostrar que estos compuestos están presentes en el suelo en concentraciones adecuadas como para inhibir el crecimiento. Además, algunas sustancias orgánicas del suelo están con frecuencia unidas a partículas del mismo, por lo que pueden ser degradadas rápidamente por microbios.

A pesar de la falta de evidencias que la apoyen, el gran interés sobre alelopatía deriva de sus potenciales aplicaciones agrícolas. Puede que, en algunos casos, las reducciones en los rendimientos de las cosechas sean provocadas por la alelopatía de malas hierbas o residuos de un cultivo anterior. Un interesante proyecto de futuro es el desarrollo de cultivos vegetales modificados genéticamente para ser alelopáticos de las malas hierbas.

La lignina es una macromolécula fenólica compleja

Después de la celulosa, la sustancia orgánica más abundante en las plantas es la **lignina,** un polímero altamente ramificado de los grupos fenilpropanoides

$$C_6 - C_3$$

que desempeña funciones tanto primarias como secundarias. No se conoce la estructura precisa de la lignina, debido a la dificultad de extraerla de las plantas, ya que se encuentra covalentemente unida a la celulosa y otros polisacáridos de la pared celular.

La lignina está formada generalmente por tres derivados fenilpropanoides diferentes: los alcoholes coniferílico, cumárico y sinapílico; sintetizados a partir de la fenilalanina a través de varios derivados del ácido cinámico. Los alcoholes fenilpropanoides se unen en un polímero por la acción de enzimas que generan intermediarios en forma de radicales libres. Las proporciones de las tres unidades monoméricas en la lignina varían entre especies, órganos vegetales e incluso entre las capas de una pared celular. En el polímero, con frecuencia hay muchos enlaces C-C y C-O-C en cada unidad de alcohol fenilpropanoide, generando una estructura compleja que se ramifica en tres dimensiones. A diferencia de polímeros como almidón, caucho o celulosa, las unidades de lignina no parecen estar unidas de un modo único y repetitivo. Sin embargo, investigaciones recientes sugieren que una proteína guía puede unir las unidades fenilpropanoides durante la biosíntesis, dando lugar a una estructura que dirige la formación de una gran unidad repetitiva (Davin y Lewis 2000; Hatfield y Vermerris 2001). (La estructura parcial de una molécula hipotética de lignina se representa en el **tema web 13.3**).

La lignina se encuentra en la pared celular de varios tipos de tejidos de soporte y de transporte, sobre todo, en las traqueidas y en los elementos de los vasos del xile-

ma. Se deposita principalmente en la pared secundaria engrosada, pero también se encuentra en la pared primaria y en la lámina media, en estrecho contacto con las celulosas y las hemicelulosas presentes. La rigidez mecánica de la lignina fortalece los tallos y tejidos vasculares, permitiendo el crecimiento vertical y la conducción del agua y los minerales a través del xilema bajo presión negativa sin colapsar el tejido. Dado que la lignina es un componente clave en los tejidos de transporte de agua, la capacidad de síntesis de lignina es una de las adaptaciones más importantes que permitieron a las plantas primitivas colonizar la tierra firme.

Además de proporcionar soporte mecánico, la lignina tiene una función protectora significativa en las plantas. Su resistencia evita que las plantan sean alimento para animales y su estabilidad química hace que sea relativamente difícil de digerir para los herbívoros. Por unión a celulosa y proteínas, la lignina reduce la digestibilidad de estas sustancias. La lignificación bloquea el crecimiento de patógenos y es una respuesta frecuente ante una infección o herida.

Existen cuatro grupos principales de flavonoides

Una de las principales clases de fenoles vegetales son los **flavonoides**. El esqueleto carbonado básico de un flavonoide contiene 15 átomos de carbono ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos:

$$C_6 - C_3 - C_6$$

Esta estructura procede de dos rutas biosintéticas diferentes: la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido masónico (Figura 13.12).

Los flavonoides se clasifican en diferentes grupos, en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos. Analizaremos cuatro de los grupos mostrados en la figura 13.10: las antocianinas, las flavonas, los flavonoles y las isoflavonas.

El esqueleto carbonado básico de flavonoides puede tener numerosos sustituyentes. Los grupos hidroxilo están presentes normalmente en las posiciones 4, 5 y 7, aunque pueden encontrarse en otras posiciones. Los azúcares son muy comunes también y, de hecho, la mayoría de los flavonoides existen naturalmente como glicósidos.

Mientras los grupos hidroxilos y los azúcares aumentan la solubilidad de los flavonoides en agua, otros sustituyentes como grupos metilésteres o unidades modificadas de isopentilo hacen que los flavonoides tengan un carácter lipofílico (hidrofóbico). Diferentes tipos de flavonoides realizan funciones muy diversas en la planta, incluyendo la pigmentación y la defensa.

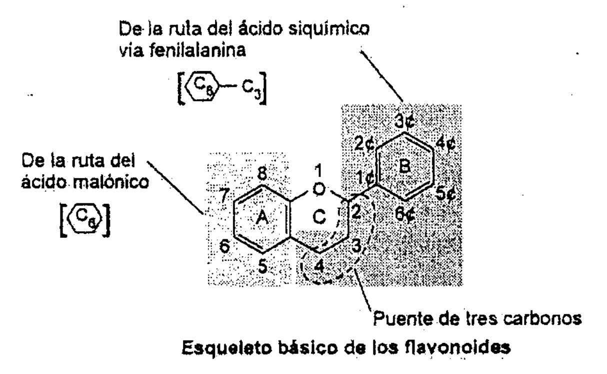


Figura 13.12 Esqueleto carbonado básico de los flavonoides. Los flavonoides se sintetizan a partir de productos de las rutas del ácido siquímico y malónico. En el sistema de anillos de los flavonoides se muestra la numeración de los carbonos.

Las antocianinas son flavonoides coloreados que atraen animales

Además de las interacciones depredador-presa, existen otras asociaciones entre plantas y animales. De hecho, paralelamente a la ingesta del néctar o la pulpa del fruto, los animales llevan a cabo un servicio extremadamente importante para las plantas como agentes transportadores del polen y las semillas. Los metabolitos secundarios están implicados en estas interacciones planta-animal, ayudando a atraer a los animales a las flores y frutos, o proporcionando señales visuales y olfativas.

Los pigmentos coloreados de las plantas pertenecen a dos tipos principales: carotenoides y flavonoides. Los *carotenoides*, como ya hemos visto, son compuestos terpenoides amarillos, naranjas y rojos, que sirven como pigmentos auxiliares en la fotosíntesis (véase el capítulo 7). Los *flavonoides* son compuestos fenólicos que incluyen un amplio rango de sustancias coloreadas.

El grupo más extendido de flavonoides pigmentados son las **antocianinas**, responsables de la mayoría de los colores rojo, rosa, morado y azul de las plantas. Debido a que colorean flores y frutos, las antocianinas son muy importantes en la atracción de animales para la polinización y la dispersión de las semillas.

Las antocianinas son glicósidos que tienen un azúcar en posición 3 (Figura 13.13B) y en ocasiones en alguna otra posición. Cuando las antocianinas carecen del azúcar, las se conocen como **antocianidinas** (Figura 13.13A). El color de las antocianinas depende de diferentes factores: el número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B de la antocianina (véase la figura 13.13A), la presencia de ácidos aromáticos esterificados en el anillo principal y el pH de las vacuolas celulares en las que se almacenan estos pigmentos. Las antocianinas también pueden presentarse como complejos supramoleculares junto a iones metálicos quelados y flavonas. Se ha demos-

(A)

HO, O+, A, C, B, 1', 2', 3', 4', 5', 6', OH, OH

Antocianidina

(B)

HO, O+, A, C, B, OH, O—Azúcar, OH

Antocianina

Figura 13.13 Estructuras de antocianidinas (A) y antocianinas (B). Los colores de las antocianidinas dependen en parte de los sustituyentes del anillo B (véase la tabla 13.1). Un aumento en el número de grupos hidroxilo desplaza la absorción a una longitud de onda mayor, dando una coloración azul. La sustitución de un grupo hidroxilo por un grupo metoxilo (OCH_3) desplaza la absorción a una longitud de onda ligeramente más corta, dando un color más rojo.

trado que los pigmentos azules de la comelina (*Commelina communis*) están formados por un gran complejo de seis moléculas de antocianinas, seis flavonas y dos iones magnesio asociados (Kondo y col. 1992). La mayoría de las antocianidinas comunes y sus colores se muestran en la figura 13.13 y en la tabla 13.1.

Teniendo en cuenta la gran variedad de factores que afectan la coloración de las antocianinas y la posible presencia de carotenoides, no es sorprendente que en la naturaleza existan muchos colores de flores y frutos. La evolución del color de las flores ha podido estar determinada por la presión selectiva de diferentes polinizadores que, con frecuencia, tienen preferencias por diferentes colores.

TABLA 13.1
Efectos de los sustituyentes del anillo en el color de las antocianidinas

Antocianidina	Sustituyentes	Color
Pelargonidina	4'-OH	Rojo naranja
Cianidina	3'-OH, 4'-OH	Rojo púrpura
Delfinidina	3'-OH, 4'-OH, 5'-OH	Azul púrpura
Peonidina	3'-OCH_3, 4'-OH	Rojo rosado
Petunidina	3'-OCH_3, 4'-OH, 5'-OCH_3	Púrpura

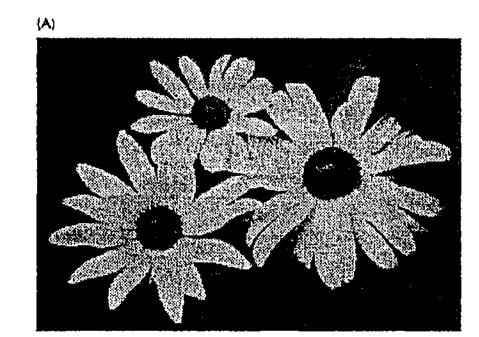
El color, desde luego, es un tipo de señal usado por las flores para atraer a los polinizadores. Los compuestos volátiles, particularmente los monoterpenos, proporcionan los olores atractivos.

Los flavonoides protegen del daño provocado por la luz ultravioleta

Los dos otros grupos de flavonoides que se encuentran en las flores son las **flavonas** y los **flavonoles** (véase la figura 13.10). Estos flavonoides generalmente absorben luz a longitudes de onda más cortas que las antocianinas, por lo que no son visibles para los humanos. Sin embargo, los insectos como las abejas, que ven en el rango ultravioleta del espectro, responden a flavonas y flavonoles como señales de atracción (Figura 13.14). Los flavonoles en una flor suelen formar patrones simétricos de rayas, manchas o círculos concéntricos llamadas *guías de néctar* (Lunau 1992). Estos patrones pueden ser visibles para los insectos y les ayudan a localizar el polen y el néctar.

Las flavonas y los flavonoles no están restringidos a las flores; también están presentes en las hojas de todas las plantas verdes. Estas dos clases de flavonoides protegen a las células del exceso de radiación UV-B (280-320 nm) porque se acumulan en las capas epidérmicas de hojas y tallos, y absorben luz intensamente en la región del UV-B permitiendo a la luz visible (fotosintéticamente activa) penetrar de forma

(A)



(B)

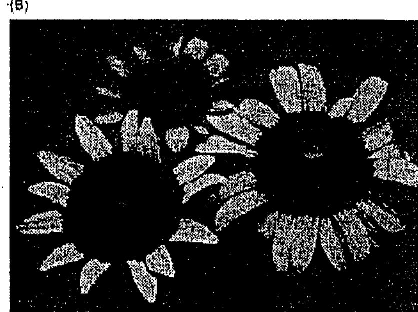


Figura 13.14 Rudbeckia amarilla (*Rudbeckia* spp.), tal como la ven los humanos (A) y como deben verla las abejas (B). (A) Para los humanos la inflorescencia presenta brácteas amarillas y una zona central marrón. (B) Para las abejas, los extremos de las brácteas aparecen de color «amarillo brillante», y la porción más interna de «amarillo oscuro», mientras que la zona es de color «negro». Los favonoles que absorben luz ultravioleta se encuentran en las partes más internas de las brácteas, pero no en los extremos. La distribución de los flavonoles en las brácteas y la sensibilidad de los insectos a la parte UV del espectro contribuyen al patrón en «ojo de buey» que ven las abejas y que, presumiblemente, les ayuda a localizar el polen y el néctar. La iluminación especial se utilizó para estimular la sensibilidad espectral del sistema visual de las abejas. (Cortesía de Thomas Eisner). (Véanse las fotografías en color en el CD.)

ininterrumpida. Además, la exposición de las plantas a un incremento de luz UV-B aumenta la síntesis de flavonas y flavonoles.

Los mutantes de *Arabidopsis thaliana* que carecen del enzima chalcona sintasa no pueden producir flavonoides. Al carecer de flavonoides, estas plantas son mucho más sensibles a la radiación UV-B que el tipo silvestre, y crecen muy poco en condiciones normales. Cuando se elimina la luz UV-B crecen normalmente (Li y col. 1993). En la protección frente a la radiación UV en *Arabidopsis* también son importantes un grupo de ésteres de fenilpropanoides sencillos.

Recientemente se han descubierto otras funciones de los flavonoides. Por ejemplo, las flavonas y loa flavonoles secretados al suelo por las raíces de leguminosas median la interacción de las legumbres y los simbiontes fijadores de nitrógeno, un fenómeno descrito en el capítulo 12. Como analizaremos en el capítulo 19, trabajos recientes sugieren que los flavonoides también juegan un papel regulador en el desarrollo vegetal como moduladores del transporte polar de auxinas.

Los isoflavonoides tienen actividad antimicrobiana

Los **isoflavonoides** (isoflavonas) son un grupo de flavonoides en los que la posición del anillo aromático (anillo B) está cambiada (véase la figura 13.10). Los isoflavonides se encuentran frecuentemente en las legumbres y tienen diferentes funciones. Algunos, como los rotenoides, tienen una potente actividad insecticida; otros tienen efectos antiestrogénicos. Por ejemplo, el ganado que pasta trébol con frecuencia sufre de infertilidad. El sistema de anillos de los isoflavonoides tiene una estructura tridimensional similar a la de los esteroides (Figura 13.8B), permitiendo a estas sustancias unirse a receptores de estrógenos. Los isoflavonoides también pueden ser los responsables de las propiedades anticancerígenas de los alimentos preparados con soja.

En los últimos años, los isoflavonoides que han llegado a conocerse mejor son las *fitoalexinas*, compuestos antimicrobianos sintetizados en respuesta a la infección fúngica o bacteriana que ayudan a limitar la invasión del patógeno. Las fitoalexinas se estudiarán más adelante en este capítulo.

Los taninos disuaden a los herbívoros

Una segunda clase de polímero fenólico vegetal con propiedades defensivas, además de la lignina, son los **taninos**. El término *tanino* fue usado por primera vez para describir aquellos compuestos que podían convertir la piel animal en cuero, en el proceso conocido como curtido. Los taninos se unen al colágeno de las pieles animales, aumentando su resistencia al calor, al agua y a los microbios.

(A) Tanino condensado

(B) Tanino hidrolizable

Ácido gálico

Figura 13.15 Estructuras de algunos taninos formados por ácidos fenólicos o unidades de flavonoides. (A) La estructura general de un tanino condensado, donde *n* tiene un valor normalmente entre 1 y 10. Puede también haber un tercer grupo -OH en el anillo B. (B) El tanino hidrolizable de zumaque (*Rhus semialata*) está formado por una molécula de glucosa y ocho moléculas de ácido gálico.

Hay dos clases de taninos: condensados e hidrolizables. Los **taninos condensados** son compuestos formados por la polimerización de unidades de flavonoides (Figura 13.15A). Son constituyentes frecuentes de las plantas leñosas. Como los taninos condensados pueden ser hidrolizados a antocianinas por tratamientos con ácidos fuertes, se les denomina algunas veces *proantocianidinas*.

Los **taninos hidrolizables** son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples (véase la figura 13.15B). Son más pequeños que los taninos condensados y se hidrolizan más fácilmente, siendo necesarios sólo ácidos diluidos. La mayoría de los taninos tienen masas moleculares comprendidas entre 600 y 3000.

Los taninos son generalmente toxinas que reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos herbívoros cuando son añadidos a sus dietas. Además, los taninos actúan como repelentes alimenticios de una gran diversidad de animales. Los mamíferos del tipo del vacuno, los ciervos y los monos, evitan las plantas o partes de las plantas que contienen concentraciones elevadas de taninos. Por ejemplo, los frutos inmaduros contienen altos niveles de taninos que suelen concentrarse en la piel.

Es curioso que los humanos con frecuencia buscan un cierto nivel de astringencia en alimentos con taninos que ingieren, como en las moras, las manzanas, el té y el vino tinto. Recientemente, se ha comprobado que los polifenoles (taninos) del vino tinto bloquean la formación de la endotelina-1, una molécula señal que provoca vasoconstricción (Corder y col. 2001). Este efecto de los taninos del vino puede contribuir a los efectos beneficiosos del vino tinto mencionados con frecuencia, especialmente por la reducción del riesgo de una enfermedad coronaria asociada con un consumo moderado.

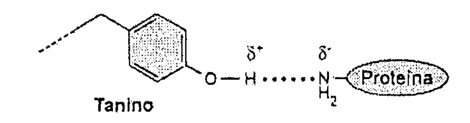
Aunque el consumo moderado de polifenoles tenga efectos beneficiosos para la salud del hombre, las propiedades defensivas de los taninos se deben a su toxicidad, que se suele atribuir a su capacidad de unirse a proteínas de forma inespecífica. Desde hace tiempo se cree que los taninos vegetales forman complejos con proteínas en los intestinos de los herbívoros, por formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo fenólicos y sitios electronegativos de la proteína (Figura 13.16A).

Resultados más recientes indican que los taninos y otros fenoles se pueden unir a las proteínas de la dieta de forma covalente (véase la figura 13.16B). Las hojas de muchas plantas contienen enzimas que oxidan fenoles a sus correspondientes formas quinonas en los intestinos de los herbívoros (Felton y col. 1989). Las quinonas son moléculas electrofílicas altamente reactivas que reaccionan rápidamente con los grupos nucleofílicos $-NH_2$ y $-SH$ de las proteínas (véase la figura 13.16B). Independientemente del mecanismo, la unión proteína-tanino se produce, y tiene un impacto negativo en la nutrición del herbívoro. Los taninos pueden inactivar los enzimas digestivos de los herbívoros y formar complejos agregados entre los taninos y las proteínas vegetales difíciles de digerir.

Los herbívoros que normalmente se alimentan de plantas ricas en taninos parecen poseer interesantes adaptaciones para eliminar los taninos de su sistema digestivo. Por ejemplo, algunos mamíferos, como roedores y conejos, producen proteínas salivares con un alto contenido en prolina (25-45%) que tienen una gran afinidad por los taninos. La secreción de estas proteínas es inducida por la ingestión de alimento con un alto contenido en taninos y disminuye notablemente sus efectos tóxicos (Butler 1989). El elevado número de residuos de prolina proporciona a las proteínas una conformación abierta muy flexible y un alto grado de hidrofobicidad que facilita la unión a los taninos.

Los taninos vegetales también sirven como defensas contra microorganismos. Por ejemplo, la parte central de muchos árboles contiene elevadas concentraciones de taninos que ayudan a prevenir la podredumbre producida por hongos o bacterias.

(A) Puente de hidrógeno entre un tanino y una proteína



(B) Enlace covalente a la proteína tras una oxidación

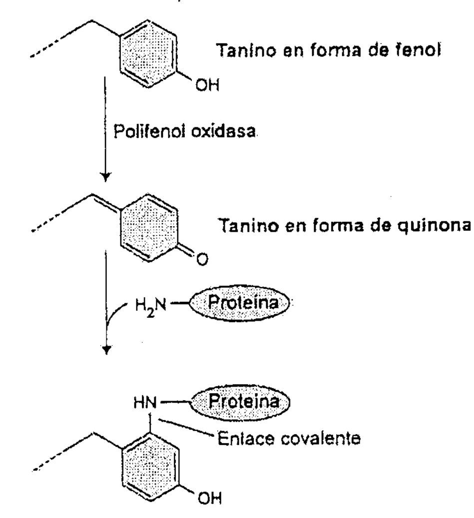


Figura 13.16 Mecanismos propuestos de interacción de los taninos con proteínas. (A) Se pueden formar puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo fenólicos de los taninos y los sitios electronegativos de la proteína. (B) Los grupos hidroxilo fenólicos pueden unirse covalentemente a las proteínas tras su activación por enzimas oxidativos, como la polifenol oxidasa.

COMPUESTOS QUE CONTIENEN NITRÓGENO

Existe una gran cantidad de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno en sus estructuras. En esta clase están incluidas las defensas contra herbívoros conocidas como alcaloides y glicósidos cianogénicos, que son de gran interés debido a su toxicidad para el hombre y a sus propiedades medicinales. Muchos metabolitos secundarios nitrogenados se biosintetizan a partir aminoácidos comunes.

En esta sección examinaremos la estructura y propiedades biológicas de varios metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, como alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos y aminoácidos no proteicos. Además, analizaremos la capacidad de la *sistemina*, una proteína liberada en las células dañadas, para actuar como señal de la existencia de una herida para el resto de la planta.

Los alcaloides tienen efectos fisiológicos en los animales

Los **alcaloides** comprenden una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y se encuentran aproximadamente en un 20% en las especies de plantas vasculares. En estas sustancias, el átomo de nitrógeno está formando parte de un **anillo heterocíclico**, un anillo que contiene átomos de nitrógeno y de carbono. Como grupo, los alcaloides son los más conocidos por sus impresionantes efectos farmacológicos sobre los animales vertebrados.

Como su propio nombre sugiere, muchos alcaloides son alcalinos. A los valores de pH normales del citosol (pH de 7,2) o de la vacuola (pH de 5 a 6), el átomo de nitrógeno está protonado; por tanto, los alcaloides están cargados positivamente y, por lo general, son solubles en agua.

Los alcaloides se sintetizan normalmente a partir de unos pocos aminoácidos comunes, en concreto lisina, tirosina y triptófano. Sin embargo, el esqueleto carbonado de algunos alcaloides contiene un componente derivado de la ruta de los terpenos. Los principales tipos de alcaloides y los aminoácidos precursores se muestran en la tabla 13.2. Otros alcaloides, como la nicotina y compuestos relacionados (Figura 13.17), derivan de la ornitina, un intermediario de la biosíntesis de la arginina. El ácido nicotínico, vitamina B (niacina) es un precursor del anillo piridina (de seis átomos) de este alcaloide; el anillo pirrolidina (de cinco átomos) de la nicotina procede de la ornitina (Figura 13.18). El ácido nicotínico es también un constituyente del NAD^+ y $NADP^+$, que actúan como transportadores de electrones en el metabolismo.

El papel de los alcaloides en las plantas ha sido objeto de especulación durante los últimos cien años. Durante un tiempo se pensó que los alcaloides eran desechos nitrogenados (análogos a la urea y al ácido úrico de los animales), compuestos de almacenamiento de nitrógeno o reguladores del crecimiento, pero muy pocas pruebas

TABLA 13.2
Principales tipos de alcaloides, sus aminoácidos precursores y ejemplos conocidos de cada tipo

Clase de alcaloide	Estructura	Precursor biosintético	Ejemplos	Usos humanos
Pirrolidina	N	Ornitina (aspartato)	Nicotina	Estimulante, calmante, tranquilizante
Tropano	N	Ornitina	Atropina	Prevención de espasmos intestinales, antídoto contra otros venenos; dilatación de las pupilas para examen
			Cocaína	Estimulante del sistema nervioso central, anestésico local
Piperidina	N	Lisina (o acetato)	Coniína	Veneno (paraliza las neuronas motoras)
Pirrolicidina	N	Ornitina	Retrorsina	Ninguno
Quinolicidina	N	Lisina	Lupinina	Restaura el ritmo cardiaco
Isoquinolina	N	Tirosina	Codeína	Analgésico, tratamiento de la tos
			Morfina	Analgésico
Indol	N	Triptófano	Psicocibina	Alucinógeno
			Reserpina	Tratamiento de la hipertensión, tratamiento de psicosis
			Estricnina	Veneno de ratas, tratamiento de desórdenes oculares

apoyaban cualquiera de estas funciones. Actualmente se cree que la mayoría de los alcaloides actúan como defensas frente a predadores, especialmente mamíferos, debido a su toxicidad y capacidad de disuasión (Hartmann 1992).

Un gran número de muertes entre el ganado son debidas a la ingestión de plantas que contienen alcaloides. En los Estados Unidos, un porcentaje importante de ganado se envenena anualmente por consumo de grandes cantidades de plantas que contienen alcaloides, como son los altramuces (*Lupinus*), albarraz (*Delphinium*) y la hierba cana (*Senecio*). Este fenómeno puede ser debido a que los animales de granja, a diferencia de los salvajes, no han estado sujetos a la selección natural para evitar las plantas tóxicas. De hecho, parte del ganado prefiere las plantas que contienen alcaloides al forraje menos dañino.

Casi todos los alcaloides son tóxicos para los humanos cuando son ingeridos en cantidades suficientes. Por ejemplo, estricnina, atropina y coniína (del veneno cicu-

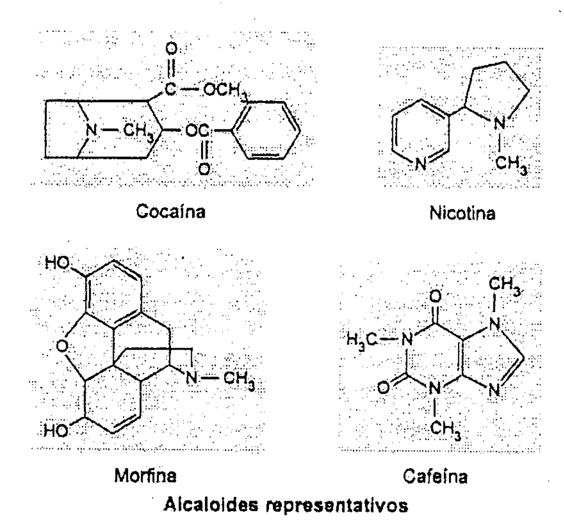


Figura 13.17 Ejemplos de alcaloides, un grupo heterogéneo de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, generalmente como parte de un anillo heterocíclico. La cafeína es un alcaloide tipo purina similar a las bases nitrogenadas adenina y guanina. El anillo de pirrolidina (de cinco átomos) de la nicotina procede de la ornitina; el anillo piridina (de seis átomos) deriva del ácido nicotínico.

ta) son agentes alcaloides venenosos clásicos. Sin embargo, a pequeñas dosis pueden ser útiles desde un punto de vista farmacológico. La morfina, la codeína y la escopolamina son algunos de los alcaloides más usados en medicina. Otros alcaloides como cocaína, nicotina y cafeína (véase la figura 13.17) no tienen un uso médico, pero están muy extendidos como estimulantes o sedantes.

A nivel celular, el mecanismo de acción de los alcaloides en animales es bastante variable. Muchos alcaloides interfieren con componentes del sistema nervioso, especialmente los transmisores químicos; otros afectan al transporte a través de la membrana, a la síntesis de proteínas o a actividades enzimáticas diversas.

Otro grupo de alcaloides, alcaloides de la pirrolicidina, muestran cómo los herbívoros se han adaptado para tolerar las sustancias defensivas vegetales e incluso para usarlas en su propia defensa (Hartmann 1999). En las plantas, los alcaloides de la pirrolicidina se producen naturalmente como N-óxidos no tóxicos. En el tracto digestivo de los herbívoros, no obstante, son reducidos rápidamente a alcaloides terciarios hidrofóbicos no cargados (Figura 13.19), que atraviesan fácilmente las membranas y son tóxicos. Sin embargo, algunos herbívoros, como la mariposa *Tyria jacobeae* han desarrollado la capacidad de reconvertir los alcaloides terciarios de la pirrolicidina a una forma N-óxido no tóxica inmediatamente después de haber sido absorbidos por su tracto digestivo. Estos herbívoros pueden almacenar los N-óxidos en sus cuerpos como defensas contra sus propios predadores.

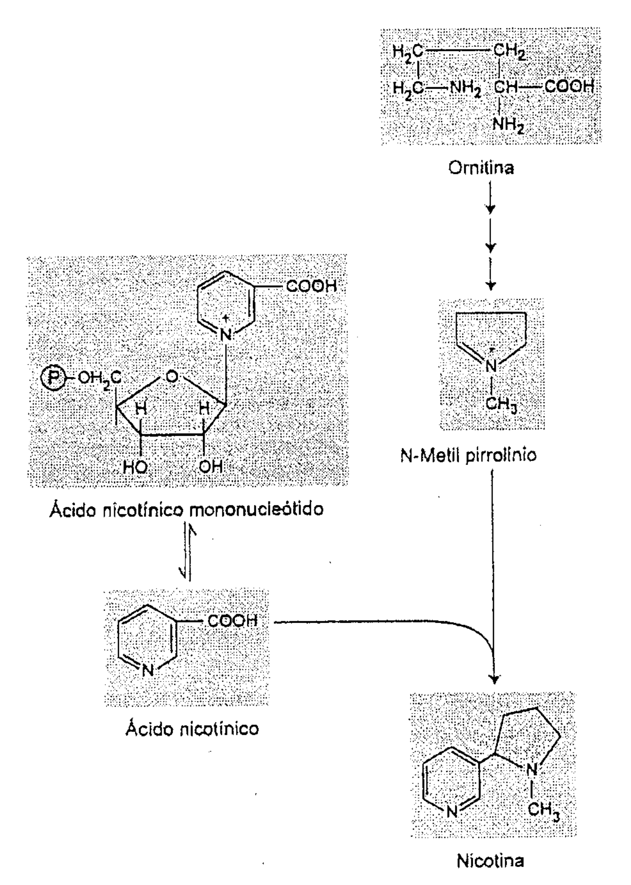


Figura 13.18 La biosíntesis de la nicotina comienza con la biosíntesis del ácido nicotínico (niacina) a partir de aspartato y gliceraldehído-3-fosfato. El ácido nicotínico es un componente del NAD^+ y del $NADP^+$, compuestos importantes en las reacciones biológicas de oxidación-reducción. El anillo de cinco átomos de la nicotina deriva de la ornitina, un intermediario de la biosíntesis en la arginina.

No todos los alcaloides que aparecen en las plantas son producidos por ellas mismas. Muchas herbáceas hospedan simbiontes fúngicos endógenos que crecen en el apoplasto y sintetizan una gran variedad de alcaloides. Las herbáceas con hongos simbiontes suelen crecer mejor y estar mejor defendidas de los insectos y mamíferos herbívoros. Desafortunadamente, algunas herbáceas con simbiontes como la festuca (*Festuca arundinacea*), importantes como hierba de pasto, pueden ser tóxicas para el ganado cuando su contenido en alcaloides es demasiado alto. Actualmente las investigaciones están dirigidas a obtener festuca con niveles de alcaloides que no

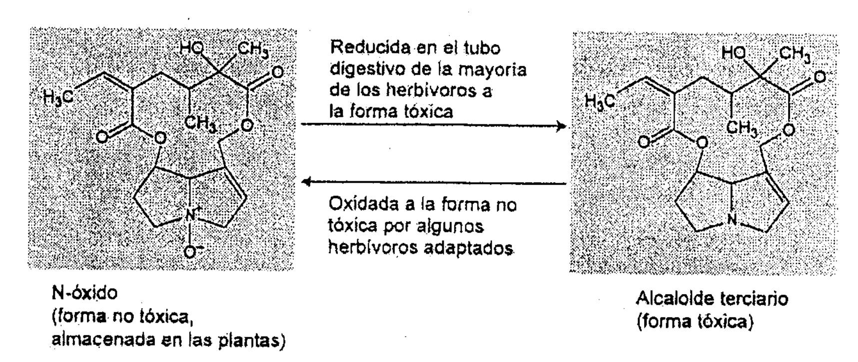


Figura 13.19 En la naturaleza se presentan dos formas de los alcaloides pirrolicidinas: la forma N-óxido y el alcaloide terciario. La forma N-óxido no tóxica que se encuentra en plantas se reduce a la forma terciaria tóxica en el tracto digestivo de la mayoría de los herbívoros. No obstante, algunos herbívoros adaptados pueden revertir la forma alcaloide terciaria tóxica a la forma N-óxido no tóxica. Las formas que aquí se ilustran son del alcaloide senecionina, encontrado en especies de hierba cana (*Senecio*).

sean venenosos para el ganado, pero que sigan proporcionando protección contra los insectos (véase el **ensayo web 13.2**).

Como los monoterpenos en la resina de las coníferas y otros muchos compuestos de defensa contra los herbívoros, los alcaloides aumentan en respuesta a un daño iniciado por un herbívoro, reforzando a la planta para el siguiente ataque (Karban y Baldwin 1997). Por ejemplo, *Nicotiana attenuata*, una planta de tabaco silvestre que crece en los desiertos del Great Basin, produce grandes niveles de nicotina después de ser atacada por herbívoros. No obstante, cuando es atacada por gusanos tolerantes a la nicotina, no se produce un aumento en los niveles de nicotina. En su lugar se liberan terpenos volátiles que atraen a los predadores de los gusanos. Es evidente, que el tabaco silvestre y otras plantas tienen formas de determinar qué tipo de herbívoro está dañando sus hojas. Los herbívoros deben señalizar su presencia por el tipo de daño que infligen o por los compuestos químicos distintivos que liberan. Recientemente, se ha demostrado que las secreciones bucales de gusanos que se alimentan de hojas de maíz contienen conjugados de ácidos grasos y aminoácidos que inducen a la planta a producir terpenos defensivos cuando se aplican a hojas cortadas.

Los glicósidos cianogénicos liberan cianuro de hidrógeno venenoso

En las plantas existen varios compuestos de nitrógeno protectores diferentes a los alcaloides. Dos de estos grupos de sustancias son los glicósidos cianogénicos y los glucosinolatos, compuestos que no son tóxicos por sí mismos, pero que se degradan

Glicósido cianogénico — Glicosidasa (Azúcar) → Cianhidrina — Hidroxinitrilo liasa o espontáneamente → Cetona + Cianuro de hidrógeno ($HC{\equiv}N$)

Figura 13.20 Hidrólisis catalizada por enzima de los glicósidos cianogénicos para liberar ácido cianhídrico. R y R' representan varios sustituyentes alquilo o arilo. Por ejemplo, si R es un fenilo, R' es hidrógeno y el azúcar es el disacárido β-gentobiosa, el compuesto es la amigdalina (el glucósido cianogénico que se encuentra en las semillas de almendras, albaricoques, cerezas y melocotones).

rápidamente cuando la planta es aplastada, liberando venenos volátiles. Los glicósidos cianogénicos liberan un veneno muy conocido que es el gas cianuro de hidrógeno (HCN).

La ruptura de los glicósidos cianogénicos en una planta es un proceso enzimático que tiene lugar en dos etapas. Las especies que producen glicósidos cianogénicos también poseen los enzimas necesarios para hidrolizar el azúcar y liberar el HCN:

1. En el primer paso, el azúcar es liberado por una glucosidasa, un enzima que separa los azúcares de las moléculas a las cuales están unidos (Figura 13.20).
2. En la segunda etapa, el producto resultante de la hidrólisis, llamado α-hidroxinitrilo o cianhidrina, se descompone espontáneamente a baja velocidad para liberar HCN. Este segundo paso puede ser acelerado por el enzima hidroxinitrilo liasa.

Los glicósidos cianogénicos normalmente no se degradan en una planta intacta porque el glicósido y los enzimas degradativos están separados espacialmente, en diferentes compartimentos celulares o en tejidos distintos. En sorgo, el glicósido cianogénico durrina está presente en las vacuolas de las células epidérmicas, mientras que los enzimas hidrolíticos y líticos se encuentran en el mesofilo (Poulton 1990).

En condiciones normales, esta compartimentación evita la descomposición del glicósido. Sin embargo, cuando un herbívoro daña la hoja durante la ingestión, los contenidos de los diferentes tejidos se mezclan y se forma el HCN. Los glicósidos cianogénicos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran frecuentemente en leguminosas, herbáceas y otras especies de la familia de la rosa.

Existen evidencias importantes que indican que los glicósidos cianogénicos tienen una función protectora en algunas plantas. El HCN es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas, como por ejemplo la citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial. La presencia de glicósidos cianogénicos evita que determinadas plantas sean el alimento de insectos y otros herbívoros tales como caracoles y babosas. No obstante, como ocurre con otras clases de metabolitos se-

cundarios, algunos herbívoros se han adaptado a alimentarse de plantas cianogénicas y toleran grandes dosis de HCN.

Los tubérculos de mandioca o yuca (*Manihot esculenta*), un alimento rico en hidratos de carbono, esencial en la dieta de muchos países tropicales, contiene altos niveles de glicósidos cianogénicos. Los métodos de procesamiento tradicional como el rayado, triturado, remojado y secado, eliminan o degradan una gran parte de los glicósidos cianogénicos presentes en los tubérculos de mandioca. Sin embargo, el envenenamiento crónico que produce una parálisis parcial de los miembros está todavía muy extendido en las regiones donde la mandioca es la principal fuente de alimento debido a que los métodos tradicionales de detoxificación de la mandioca no son completamente efectivos. Además, las poblaciones que consumen mandioca tienen una nutrición pobre, lo que agrava los efectos de los glicósidos cianogénicos.

Se están dirigiendo numerosos esfuerzos a reducir el contenido de glicósidos cianogénicos en la mandioca en aproximaciones tanto de mejora convencional como de ingeniería genética. Sin embargo, no se busca una completa eliminación de los glicósidos cianogénicos ya que estas sustancias son probablemente las responsables de que la mandioca pueda ser almacenada durante mucho tiempo sin ser atacada por plagas de patógenos.

Los glucosinolatos liberan toxinas volátiles

Una segunda clase de glicósidos vegetales son los **glucosinolatos** o *glicósidos del aceite de mostaza,* que se degradan para liberar sustancias de defensa volátiles. Se encuentran principalmente en las Brasicaceae y familias vegetales próximas, y liberan los compuestos responsables del olor y el gusto de muchos vegetales como el repollo, el brócoli y los rábanos.

La liberación de compuestos volátiles olorosos de los glucosinolatos está catalizada por un enzima hidrolítico llamado tioglucosidasa o mirosinasa, que libera la glucosa de su unión al átomo de azufre (Figura 13.21). La aglicona resultante, porción de la molécula que no es un azúcar, se reordena, perdiendo un sulfato y generando productos de olor fuerte y químicamente reactivos, como isotiocianatos y nitrilos, dependiendo de las condiciones de hidrólisis. Estos productos funcionan como toxinas de herbívoros y repelentes alimenticios. Al igual que los glicósidos cianogénicos, en la planta intacta los glucosinolatos se almacenan físicamente separados de los enzimas que los hidrolizan, y se ponen en contacto con estos enzimas cuando la planta es triturada.

Al igual que con otros metabolitos secundarios, algunos animales se han adaptado a alimentarse de plantas que contienen glucosinolatos sin que éstos les produzcan ningún daño. Para estos herbívoros adaptados, como la oruga del repollo, los glucosinolatos actúan como estimulantes de la puesta de huevos, y los isotiocianatos producidos después de la hidrólisis de los glucosinolatos actúan como atrayentes volátiles (Rendwick 1992).

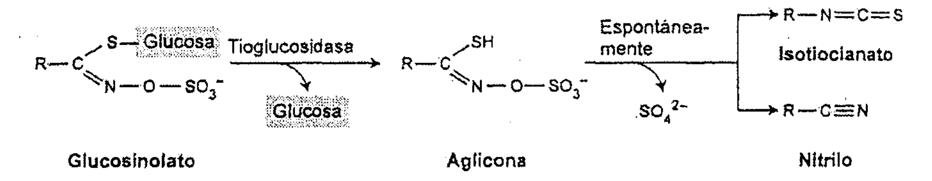


Figura 13.21 La hidrólisis de glucosinolatos a compuestos volátiles con olor a mostaza. R representa varios sustituyentes alquilo o alilo. Por ejemplo, si R es CH_2=CH-CH_2^-, el compuesto es sinigrina, el principal glucosinolato de las semillas de mostaza negra y raíces de rábano picante.

La mayor parte de las investigaciones recientes sobre la utilización de glucosinolatos en la defensa vegetal se ha centrado en la colza (*Brassica napus*), importante productora de aceite en Norte América y Europa. Los investigadores han intentado reducir los niveles de glucosinolatos de las semillas de colza, de manera que el elevado contenido en proteínas comestibles que quedan en la semilla después de la extracción del aceite pueda ser utilizado como alimento para los animales. Las primeras variedades bajas en glucosinolatos probadas en campo fueron incapaces de sobrevivir debido a serios problemas de plagas. A pesar de ello, recientemente se han desarrollado variedades con bajo nivel de glucosinolatos en semilla, pero con altos niveles de glucosinolatos en hojas, que son capaces de defenderse del ataque de plagas y no obstante proporcionan un residuo de semilla rico en proteína para la alimentación de animales.

Los aminoácidos no proteicos defienden de los herbívoros

Las plantas y los animales incorporan los mismos 20 aminoácidos en sus proteínas. Sin embargo, muchas plantas contienen otros aminoácidos no comunes, llamados **aminoácidos no proteicos**, que no son incorporados a las proteínas, sino que están presentes en su forma libre y actúan como sustancias protectoras. Los aminoácidos no proteicos con frecuencia son similares a los aminoácidos proteicos comunes. La canavanina, por ejemplo, es un análogo a la arginina, y el ácido azetidina-2-carboxílico tiene una estructura muy similar a la de la prolina (Figura 13.22).

Los aminoácidos no proteicos ejercen su toxicidad de varias formas. Algunos bloquean la síntesis o incorporación de aminoácidos proteicos; otros, como la canavanina, pueden incorporarse por error en las proteínas. Tras la ingestión, la canavanina es reconocida por los enzimas del herbívoro que normalmente unen arginina a su mo-

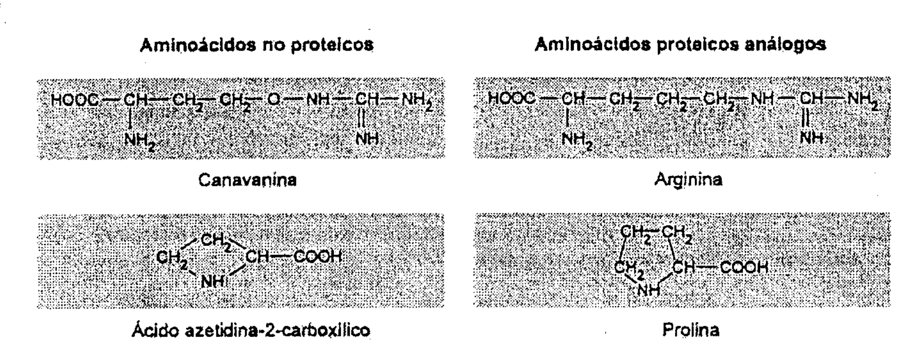


Figura 13.22 Aminoácidos no proteicos y sus aminoácidos proteicos análogos. Los aminoácidos no proteicos no se incorporan a las proteínas, pero son compuestos de defensa que se encuentran en forma libre en las células vegetales.

lécula de RNA de transferencia, de forma que es incorporado a las proteínas en lugar de la arginina. El resultado normalmente es una proteína no funcional porque su estructura terciaria o su sitio catalítico están alterados. La canavanina es menos básica que la arginina por lo que quizás pueda alterar la capacidad del enzima de unir sustratos o de catalizar reacciones químicas (Rosenthal 1991).

Las plantas que sintetizan aminoácidos no proteicos no son susceptibles a la toxicidad de estos compuestos. La judía sable (*Canavalia ensiformis*), que sintetiza grandes cantidades de canavanina en sus semillas, tiene una maquinaria de síntesis proteica capaz de distinguir entre la canavanina y la arginina, de forma que no incorpora canavanina en sus propias proteínas. Algunos insectos especializados en plantas con aminoácidos no proteicos presentan adaptaciones biológicas similares.

Ciertas proteínas vegetales inhiben la digestión en los herbívoros

Entre los diversos componentes de los arsenales de defensa de las plantas se encuentran las proteínas que interfieren la digestión de los herbívoros. Por ejemplo, algunas leguminosas sintetizan inhibidores de α–amilasas que bloquean la acción del enzima digestivo del almidón, la α-amilasa. Otras especies vegetales producen **lectinas**, unas proteínas de defensa que se unen a carbohidratos o a proteínas que contienen carbohidratos. Después de la ingestión, las lectinas se unen a las células epiteliales que cubren el tracto digestivo e interfieren en la absorción de nutrientes (Peumans y Van Damme 1995).

Las proteínas antidigestivas mejor conocidas en plantas son los inhibidores de proteinasas. Encontradas en legumbres, tomate y otras plantas, estas sustancias bloquean la acción proteolítica de los enzimas digestivos de los herbívoros. Una vez en el tracto digestivo de los herbívoros, inhiben la digestión proteica por unión fuerte y específica al sitio activo de enzimas, como la tripsina y la quimotripsina, que hidrolizan proteínas. Los insectos que se alimentan de plantas que contienen inhibidores de proteinasas tienen tasas de crecimiento reducidas, y el desarrollo se puede compensar por la adición de aminoácidos suplementarios en su dieta.

La función defensiva de los inhibidores de proteinasas se ha confirmado en experimentos con plantas transgénicas de tabaco. Las plantas que habían sido transformadas para acumular niveles elevados de inhibidores de proteinasas sufrieron menos daños por insectos herbívoros que las plantas control no transformadas (Johnson y col. 1989).

El ataque de los herbívoros inicia una compleja ruta de señalización

Los inhibidores de proteinasas y otras defensas vegetales no están siempre presentes en las plantas, y sólo se sintetizan después del ataque inicial de un herbívoro o patógeno. En tomates, el ataque de insectos provoca una rápida acumulación de inhibidores de proteinasas en toda la planta, incluso en zonas alejadas del sitio dañado. La producción sistémica de los inhibidores de proteinasas en plantas de tomate jóvenes inicia una complicada secuencia de acontecimientos:

1. Las hojas de tomate heridas sintetizan **prosistemina**, un precursor proteico de gran tamaño (200 aminoácidos).
2. La prosistemina es procesada proteolíticamente para producir un polipéptido pequeño (18 aminoácidos) llamado **sistemina**, el primer (y de momento el único) polipéptido hormonal descubierto en plantas (Pearce y col. 1991) (Figura 13.23).
3. La sistemina es liberada desde las células dañadas al apoplasto.
4. La sistemina, entonces, es transportada desde la hoja dañada a través del floema.
5. En las células diana, se postula que la sistemina se une al receptor en la membrana plasmática para iniciar la síntesis de **ácido jasmónico**, un regulador del crecimiento vegetal que tiene un amplio rango de efectos (Creelman y Mollet 1997).
6. El ácido jasmónico activa la expresión de genes que codifican para inhibidores de proteinasas (véase la figura 13.23). Otras señales, como el ABA (ácido abscísico), el ácido salicílico y los fragmentos de pectina de las paredes celulares dañadas parecen participar en esta cascada de señalización por herida, aunque sus funciones específicas no se han esclarecido todavía.

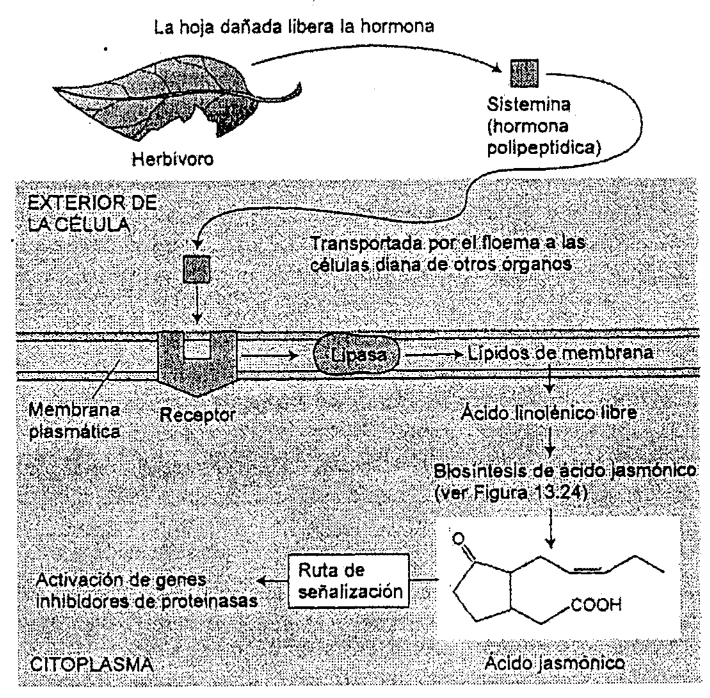


Figura 13.23 Ruta de señalización propuesta para la rápida inducción de la biosíntesis de inhibidores de proteinasas en plantas de tomate con heridas.

El ácido jasmónico es una hormona vegetal del estrés que activa numerosas respuestas de defensa

Los niveles de ácido jasmónico aumentan de manera vertiginosa en respuesta al daño causado por diferentes herbívoros e inicia la formación de diferentes clases de defensas vegetales, además de los inhibidores de proteinasas, incluyendo terpenos y alcaloides. La estructura y biosíntesis del ácido jasmónico ha intrigado a los biólogos vegetales debido a sus similitudes con la de algunos eicosanoides, que son el centro de las respuestas inflamatorias y otros procesos fisiológicos en mamíferos (véase el capítulo 14 en la página web). En plantas, el ácido jasmónico se sintetiza a partir del ácido linolénico (18:3) que se libera de las membranas lipídicas y es convertido en ácido jasmónico como se indica en la figura 13.24.

Se sabe que el ácido jasmónico induce la transcripción de genes implicados en el metabolismo de defensa en las plantas. Los mecanismos para la activación génica se van esclareciendo lentamente. Por ejemplo, en investigaciones recientes en la vincapervinca de Madagascar (*Catharanthus roseus*), que produce algunos alcaloides anticanerígenos muy valiosos, se identificó un factor de transcripción que responde al ácido jasmónico por activación de la expresión de varios genes que codifican los genes biosintéticos de los alcaloides (van der Fits y Memelink 2000). Cabe destacar que este factor de transcripción también activa los genes de ciertas rutas metabólicas primarias que proporcionan precursores para la formación de alcaloides, por lo que parece que sea el principal regulador del metabolismo de la vincapervinca de Madagascar.

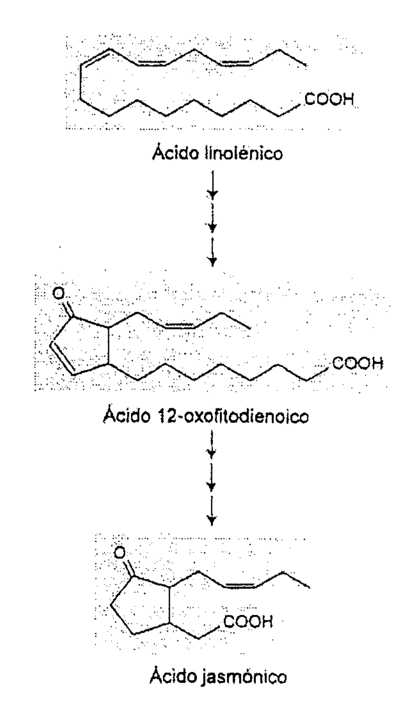


Figura 13.24 Etapas de la ruta de conversión del ácido linolénico (18:3) en ácido jasmónico.

La demostración directa del papel del ácido jasmónico en la resistencia a insectos procede de las investigaciones con líneas de mutantes de *Arabidopsis* que producen muy bajos niveles de ácido jasmónico (McConn y col. 1997). Estos mutantes pueden morir fácilmente por plagas que normalmente no dañan a *Arabidopsis*. Sin embargo, la aplicación de ácido jasmónico exógeno puede reestablecer la resistencia casi a los niveles de la planta silvestre.

DEFENSA VEGETAL CONTRA PATÓGENOS

Aunque carecen de sistema inmunitario, las plantas muestran una sorprendente resistencia a enfermedades producidas por hongos, bacterias, virus y nemátodos presentes en el ambiente. En esta sección examinaremos diferentes mecanismos desarrollados por las plantas para resistir a la infección, incluyendo la producción de agentes antimicrobianos y un tipo de muerte celular programada (véase el capítulo 16) llamada *respuesta hipersensible*. Finalmente, analizaremos un tipo especial de inmunidad vegetal llamada *resistencia sistémica adquirida*.

Algunos compuestos antimicrobianos se sintetizan antes del ataque por patógenos

Varias clases de metabolitos secundarios que ya hemos estudiado tienen una fuerte actividad antimicrobiana *in vitro*; por lo que se ha propuesto que funcionen como defensas contra patógenos en la planta intacta. Ente ellos están las saponinas, un grupo de triterpenos que se cree que alteran las membranas fúngicas al unirse a esteroles.

En experimentos llevados a cabo en el laboratorio de Anne Osbourn en el John Innes Centre (Norwich, Inglaterra), se utilizaron aproximaciones genéticas para demostrar el papel de las saponinas en la defensa contra patógenos de avena (Papadopoulou y col. 1999). Las líneas de mutantes de avena con niveles reducidos de saponinas presentan mucha menos resistencia a los patógenos fúngicos que las avenas de tipo silvestre. Es interesante destacar que una cepa fúngica, que normalmente crece en avena, fue capaz de detoxificar una de las principales saponinas de la planta. Sin embargo, mutantes de esta cepa que no podían detoxificar saponinas fueron incapaces de infectar avena, aunque podían crecer satisfactoriamente sobre trigo, que no contiene ninguna saponina.

La infección induce defensas antipatógenos adicionales

Algunas defensas son inducidas por el ataque de herbívoros o infección microbiana. Las defensas que sólo son producidas después del daño inicial por herbívoros, teóricamente necesitan una menor inversión en recursos de la planta que las defensas que están siempre presentes, aunque deben ser activadas rápidamente para ser efectivas. Al igual que los inhibidores de proteinasas, otras defensas inducidas parecen iniciarse por complejas redes de transducción de señal, que suelen implicar al ácido jasmónico.

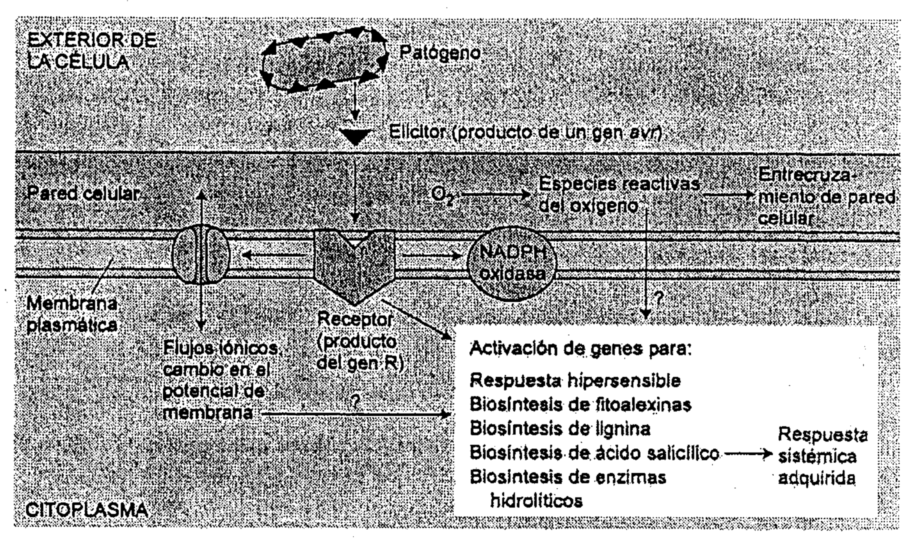


Figura 13.25 Tras la infección se inducen diversas formas de defensa antipatógeno. Fragmentos de moléculas de los patógenos, llamadas elicitores, inician una compleja ruta de señalización que conduce a la activación de las respuestas de defensa. Algunos elicitores proteicos bacterianos son inyectados directamente en la célula, donde interaccionan con los productos de los genes R.

Una vez infectadas por un patógeno, las plantas despliegan un amplio espectro de defensas contra los microbios invasores. Una defensa común es **la respuesta hipersensible,** por la que las células que rodean la zona de infección mueren rápidamente, privando al patógeno de nutrientes y evitando su extensión. Después de una respuesta hipersensible satisfactoria, queda una pequeña zona de tejido muerto en el sitio donde se ha iniciado la invasión, pero impide el resto de la planta se vea afectada.

La respuesta hipersensible con frecuencia está precedida por la producción de **especies reactivas de oxígeno**. Las células próximas a la infección sintetizan una enorme cantidad de compuestos tóxicos formados por la reducción del oxígeno molecular, incluidos el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\bullet OH$). Se cree que una oxidasa dependiente de NADPH localizada en la membrana plasmática (Figura 13.25) produce $O_2^{\bullet -}$, que es convertido posteriormente en $\bullet OH$ y H_2O_2.

El radical hidroxilo es el agente oxidante más fuerte de estas especies reactivas de oxígeno y es capaz de iniciar una serie de reacciones en cadena de radicales con una gran variedad de moléculas orgánicas, provocando la peroxidación de lípidos, la inactivación enzimática y la degradación de ácidos nucleicos (Lamb y Dixon 1997). Las especies reactivas de oxígeno pueden contribuir a la muerte celular como parte de la respuesta hipersensible o actuar para matar directamente al patógeno.

Muchas especies reaccionan a la invasión bacteriana o fúngica por síntesis de lignina o calosa (véase el capítulo 10). Se cree que estos polímeros sirven de barrera, frenando el avance del patógeno al resto de la planta y bloqueando físicamente su propagación. Una respuesta relacionada es la modificación de las proteínas de la pared celular. Ciertas proteínas de la pared ricas en prolina se llegan a entrecruzar oxidativamente después del ataque por patógenos en una reacción mediada por H_2O_2 (véase la figura 13.25) (Bradley y col. 1992). Este proceso refuerza las paredes celulares en las proximidades del sitio de infección, aumentando su resistencia a la digestión microbiana.

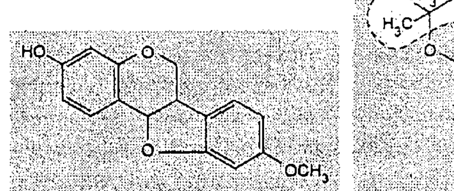
Otra respuesta de defensa a la infección es la formación de enzimas hidrolíticos que atacan la pared celular del patógeno. La invasión fúngica induce una gran cantidad de glucanasas, quitinasas y otras hidrolasas. La quitina, un polímero de residuos de N-acetilglucosamina, es el principal componente de las paredes celulares fúngicas. Estos enzimas hidrolíticos pertenecen a un grupo de proteínas que están estrechamente relacionadas con la infección patogénica y se conocen como **proteínas relacionadas con patogénesis (PR)**.

Las fitoalexinas. Quizás la respuesta mejor estudiada de las plantas a la invasión bacteriana y fúngica es la síntesis de **fitoalexinas.** Las fitoalexinas son un grupo diverso de metabolitos secundarios con una fuerte actividad antimicrobiana que se acumulan en los alrededores del sitio de infección.

La producción de fitoalexinas parece ser un mecanismo común de resistencia a microbios patógenos para un amplio rango de plantas. Sin embargo, diferentes familias de plantas utilizan diferentes tipos de productos secundarios como fitoalexinas. Por ejemplo, los isoflavonoides son las fitoalexinas más comunes en las leguminosas, mientras que en Solanaceae, como la patata, el tabaco y el tomate, las fitoalexinas son diversos sesquiterpenos (Figura 13.26).

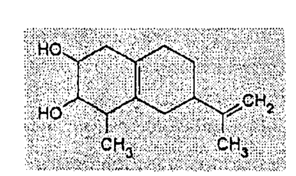
Generalmente, las fitoalexinas son indetectables en la planta antes de la infección, pero se sintetizan rápidamente después del ataque microbiano debido a la activación de nuevas rutas biosintéticas. El punto de control normalmente es la iniciación de la transcripción génica. De esta forma, las plantas no parecen almacenar ninguna maquinaria enzimática necesaria para la síntesis de fitoalexinas. En su lugar, poco después de la invasión microbiana se transcriben y traducen los RNAm adecuados, sintetizándose los enzimas de novo.

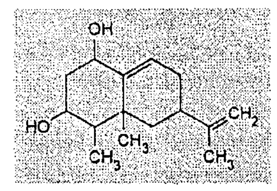
Aunque las fitoalexinas se acumulan en concentraciones que se han demostrado tóxicas para los patógenos en bioensayos, el significado defensivo de estos compuestos en la planta intacta no se conoce completamente. Experimentos recientes en plantas modificadas genéticamente y patógenos han proporcionado la primera prueba directa de la función de las fitoalexinas *in vivo.* Por ejemplo, cuando las plantas de tabaco se transformaron con un gen que cataliza la biosíntesis del resveratrol, una fitoalexina fenilpropanoide, fueron mucho más resistentes al patógeno fúngico que las plantas no transformadas (Hain y col. 1993). Por el contrario, mutantes de



Medicarpina (de alfalfa) Gliceolina I (de soja)

Isoflavonoides de las Leguminosas (familia del guisante)





Risitina (de patata y tomate) Capsidiol (de pimiento y tabaco)

Sesquiterpenos de las Solanáceas (familia de la patata)

Figura 13.26 Estructura de algunas fitoalexinas, metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas que se sintetizan rápidamente tras una infección microbiana.

Arabidopsis deficientes en la fitoalexina derivada de triptófano, camalexina, fueron más susceptibles al patógeno fúngico que la silvestre. En otros experimentos, los patógenos que fueron transformados con genes que codifican los enzimas degradativos de las fitoalexinas fueron capaces de infectar a plantas que normalmente eran resistentes (Kombrick y Somssich 1995).

Algunas plantas reconocen sustancias específicas liberadas por los patógenos

Dentro de una especie, las plantas difieren con frecuencia en su resistencia a patógenos microbianos. Estas diferencias se refieren a la velocidad e intensidad de las reacciones de la planta. Las plantas resistentes responden más rápido y más vigorosamente a los patógenos que las plantas susceptibles. Por tanto, es importante aprender cómo perciben las plantas la presencia de los patógenos e inician la defensa.

En los últimos años, los investigadores han aislado más de 20 genes diferentes de resistencia vegetal, conocidos como **genes R**, que participan en la defensa contra hongos, bacterias y nemátodos. Se cree que la mayoría de los genes R codifican receptores proteicos que reconocen y se unen a las moléculas específicas generadas por los patógenos. Estas uniones alertan a la planta de la presencia del patógeno (véase la figura 13.25). Las moléculas específicas reconocidas del patógeno se conocen como **elicitores** e incluyen proteínas, péptidos, esteroles y fragmentos de polisacáridos procedentes de la pared celular del patógeno, membrana externa o procesos de secreción.

Los productos mismos de los genes R son casi todos proteínas con un dominio rico en leucina, que se repite de forma irregular varias veces en la secuencia de aminoácidos (véase el capítulo 14 en la página web). Estos dominios pueden estar implicados en la unión del elicitor y reconocimiento del patógeno. Además, el producto del gen R inicia las rutas de señalización que activan las diversas defensas contra los patógenos. Algunos genes R codifican un sitio de unión del nucleótido que une ATP o GTP; otros codifican un dominio proteína quinasa (Young 2000).

Los productos de los genes R están distribuidos en más de un lugar en la célula. Algunos parecen estar situados en el exterior de la membrana plasmática, donde pueden detectar rápidamente los elicitores; otros en el citoplasma para detectar moléculas de patógenos que son inyectadas a la célula u otros cambios metabólicos que indican la infección por patógenos. Los genes R constituyen una de las familias más grandes de genes en las plantas y con frecuencia se agrupan en el genoma. La estructura de esta agrupación puede ayudar a generar diversidad de genes R por promoción de intercambio entre cromosomas.

Estudios de enfermedades de las plantas han mostrado complejos patrones de relaciones entre las plantas y las cepas patogénicas. Las especies vegetales son generalmente susceptibles al ataque de ciertas cepas de patógenos, pero resistentes a otras. Se cree que esta especificidad está determinada por la interacción entre los productos de los genes R y los **genes *avr* (avirulencia)**, que se cree que codifican elicitores específicos. De acuerdo con los conocimientos actuales, el éxito de una resistencia requiere que el elicitor, un producto del gen *avr* del patógeno, sea rápidamente reconocido por un receptor de la planta huésped, el producto de un gen R. A pesar de su nombre, los genes *avr* parecen codificar factores que promueven la infección.

La exposición a elicitores induce una cascada de transducción de señal

Unos pocos minutos después de que los elicitores del patógeno hayan sido reconocidos por un gen R, se inician complejas rutas de señalización que conducen a respuestas de defensa (véase la figura 13.25). Un elemento común en estas cascadas es

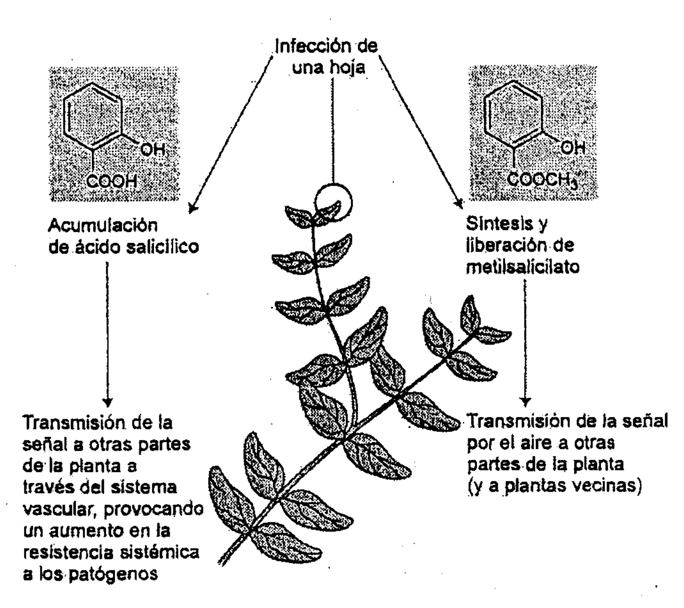


Figura 13.27 Una infección inicial por patógeno puede aumentar la resistencia frente a un futuro ataque por patógenos a través de la resistencia sistémica adquirida.

un cambio transitorio en la permeabilidad iónica de la membrana plasmática. La activación de los genes R estimula un flujo de entrada de iones Ca^{2+} y H^+ a la célula y un flujo de salida de iones K^+ y Cl^- (Nürnberger y Scheel 2001). El flujo de entrada de Ca^{2+} activa la respuesta oxidativa que puede actuar directamente en defensa (como ya hemos descrito), así como en la señalización en otras reacciones de defensa. Otros componentes de las rutas de transducción de señal estimuladas por patógenos incluyen el óxido nítrico, las proteína quinasas activadas por mitógeno (MAP), las proteína quinasas dependientes de calcio, el ácido jasmónico y el ácido salicílico (véase la siguiente sección).

Un único encuentro con un patógeno puede aumentar resistencia a futuros ataques

Cuando una planta sobrevive a una infección de un patógeno en una parte, suele desarrollar una resistencia mayor a los siguientes ataques en cualquier sitio de la planta y desarrolla protección contra un amplio rango de especies patógenas. Este fenómeno, llamado **resistencia sistémica adquirida (SAR)**, se desarrolla durante un periodo de varios días después de la infección (Ryals y col. 1996). La resistencia sistémica ad-

quirida parece ser el resultado de un aumento en los niveles de ciertos compuestos de defensa que ya hemos mencionado, incluidas quitinasas y otros enzimas hidrolíticos.

Aunque todavía se desconoce el mecanismo de la inducción SAR, una de las señales endógenas es probablemente el **ácido salicílico**. El nivel de este ácido derivado del ácido benzoico, un compuesto C_6—C_1 aumenta notablemente en la zona de la infección tras el ataque inicial, y se cree que establece la SAR en otras partes de la planta, aunque el ácido salicílico por sí mismo no es la señal móvil (Figura 13.27).

Además del ácido salicílico, estudios recientes sugieren que su metil éster, el metilsalicilato, actúa como una señal volátil que induce la SAR, y que es transmitida a partes distantes de la planta e incluso a las plantas vecinas (Shulaev y col. 1997). Así, a pesar de que las plantas carecen de sistema inmune como el que existe en muchos animales, han desarrollado unos mecanismos elaborados para protegerse de los microbios responsables de las enfermedades.

RESUMEN

Las plantas producen una gran cantidad de compuestos que aparentemente no están implicados en procesos de crecimiento y desarrollo y por eso se clasifican como metabolitos secundarios. Los científicos han especulado que estos compuestos protegen a las plantas de predadores y patógenos en base a su toxicidad y repulsión a herbívoros y microbios probada in vitro. Experimentos recientes en plantas en las que la expresión de los metabolitos secundarios ha sido alterada por métodos moleculares modernos han empezado a confirmar estas funciones defensivas.

Hay tres tipos principales de metabolitos secundarios: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos que contienen nitrógeno. Los terpenos, compuestos de unidades de cinco carbonos de isopreno, son toxinas y disuaden la ingestión a los herbívoros.

Los compuestos fenólicos, sintetizados fundamentalmente como productos de la ruta del ácido siquímico, tienen importantes y variadas funciones en las plantas. La lignina refuerza mecánicamente las paredes celulares. Los pigmentos flavonoides funcionan protegiendo a las planta de la dañina radiación ultavioleta y como atrayentes de polinizadores y dispersores de frutos. Finalmente, la lignina, los flavonoides y algunos compuestos fenólicos simples sirven como defensas contra herbívoros y patógenos.

Los miembros del tercer grupo de metabolitos secundarios, los metabolitos que contienen nitrógeno, se sintetizan principalmente a partir de aminoácidos comunes. Compuestos como alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos, aminoácidos no proteicos e inhibidores de proteinasas, protegen a las plantas de una gran variedad de animales herbívoros.

Las plantas han desarrollado múltiples mecanismos de defensa contra patógenos microbianos. Además de los metabolitos secundarios microbianos, algunos formados previamente y otros inducidos por la infección, otras formas de defensa incluyen la construcción de barreras poliméricas para evitar la penetración del patógeno y la síntesis de enzimas que degradan sus paredes celulares. Además, las plantas emplean sistemas específicos de reconocimiento y señalización que permiten la rápida detección de la invasión patogénica e iniciación de vigorosas respuestas defensivas. Una vez infectadas, algunas plantas desarrollan inmunidad frente a posteriores ataques patogénicos.

Durante millones de años, las plantas se han defendido de los ataques de herbívoros y microorganismos. Las plantas con buenas defensas pudieron sobrevivir mejor que aquellas que no las tenían, por lo que la capacidad para producir productos de defensa se ha extendido ampliamente en todo el reino vegetal. Como respuesta, muchas especies de herbívoros y microbios han desarrollado la capacidad de alimentarse o infectar a plantas que contienen dichos productos secundarios sin verse afectados por ello y esta presión de herbívoros y patógenos ha iniciado la selección de nuevos productos secundarios de defensa en las plantas.

El estudio de los productos secundarios vegetales tiene numerosas aplicaciones prácticas. En virtud de su actividad biológica contra herbívoros y patógenos, muchas de estas sustancias son utilizadas comercialmente como insecticidas, fungicidas y productos farmacéuticos, mientras que otras se usan como fragancias, sabores, drogas medicinales y materias industriales. La mejora de cultivos buscando un incremento en los niveles de los metabolitos secundarios ha hecho posible reducir la necesidad de ciertos pesticidas potencialmente dañinos y muy costosos. En algunos casos, no obstante, es necesario reducir los niveles naturales de los metabolitos secundario para minimizar la toxicidad en humanos y animales domésticos.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

13.1 Estructura de varios triterpenos
Se muestran las estructuras de varios triterpenos.

13.2 La ruta del ácido siquímico
Se muestra la ruta bioquímica de la síntesis de aminoácidos aromáticos, precursores de los compuestos fenólicos.

13.3 Estructura química detallada de una parte de una molécula de lignina
Se describe la estructura parcial de una hipotética molécula de lignina de haya europea (*Fagus sylvatica*).

ENSAYOS WEB

13.2 Descifrando la función de los metabolitos secundarios
Plantas de tabaco silvestre emplean alcaloides y terpenos para defenderse de los herbívoros.

13.2 Simbiontes fúngicos productores de alcaloides
Los hongos endófitos pueden mejorar el crecimiento vegetal al aumentar la resistencia a varios estreses y actuar como «mutualistas defensivos» contra herbívoros.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Aerts R. J. y Mordue A. J. (1997) Feeding deterrence and toxocity of neem triterpenoids. *J. Chem. Ecol.* 23: 2117–2132.

Boller T. (1995) Chemoperception of microbial signals in plant cells. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 189–214.

Bradley D. J., Kjellbom P. y Lamb C. J. (1992) Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response. *Cell* 70: 21–30.

Butler L. G. (1989) Effects of condensed tannin on animal nutrition. En *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*, R. W. Hemingway y J. J. Karchesy, eds., Plenum, New York, págs. 391–402.

Corder R., Douthwaite J. A., Lees D. M., Khan N. Q., Viseu dos Santos A. C., Wood E. G. y Carrier M. J. (2001) Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature* 414: 863–864.

Creelman R. A. y Mullet J. E. (1997) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 355–381.

Davin L. B. y Lewis N. G. (2000) Dirigent proteins and dirigent sites explain the mystery of specificity of radical precursor coupling in lignan and lignin biosynthesis. *Plant Physiol.* 123: 453–461.

Eigenbrode S. D., Stoner K. A., Shelton A. M. y Kain W. C. (1991) Characteristics of glossy leaf waxes associated with resistance to diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in *Brassica oleracea*. *J. Econ. Entomol.* 83: 1609–1618.

Felton G. W., Donato K., Del Vecchio R. J. y Duffey S. S. (1989) Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. *J. Chem. Ecol.* 15: 2667–2694.

Gershenzon J. y Croteau R. (1992) Terpenoids. En *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, Vol. 1: *The Chemical Participants*, 2ª ed., G. A. Rosenthal y M. R. Berenbaum eds., Academic Press, San Diego, CA, págs. 165–219.

Gunning B. E. S. y Steer M. W. (1996) *Plant Cell Biology: Structure and Function of Plant Cells.* Jones and Bartlett, Boston.

Hain R., Reif H.-J., Krause E., Langebartels R., Kindl H., Vornam B., Wiese W., Schmelzer E., Schreier P. H., Stoecker R. H. y Stenzel K. (1993) Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* 361: 153–156.

Hartmann T. (1992) Alkaloids. En *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, Vol. 1: *The Chemical Participants*, 2ª ed., G. A. Rosenthal y M. R. Berenbaum, eds., Academic Press, San Diego, CA, págs. 79–121.

Hartmann T. (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* 207: 483–495.

Hatfield R. y Vermerris W. (2001) Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant Physiol.* 126: 1351–1357.

Herrmann K. M. y Weaver L. M. (1999) The shikimate pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 473–503.

Inderjit Dakshini K. M. M. y Einhellig F. A., eds. (1995) *Allelopathy: Organisms, Processes y Applications*. ACS Symposium series American Chemical Society, Washington, DC.

Jeffree C. E. (1996) Structure and ontogeny of plant cuticles. En *Plant Cuticles: An Integrated Functional Approach*, G. Kerstiens, ed., BIOS Scientific, Oxford, págs. 33–85.

Jin H. y Martin C. (1999) Multifunctionality and diversity within the plant *MYB*-gene family. *Plant Mol. Biol.* 41: 577–585.

Johnson R., Narvaez J., An G. y Ryan C. (1989) Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants: Effects on natural defense against *Manduca sexta* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 9871–9875.

Karban R. y Baldwin I. T. (1997) *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.

Kessler A. y Baldwin I. T. (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291: 2141–2144.

Kombrink E. y Somssich I. E. (1995) Defense responses of plants to pathogens. *Adv. Bot. Res.* 21: 1–34.

Kondo T., Yoshida K., Nakagawa A., Kawai T., Tamura H. y Goto T. (1992) Structural basis of blue-color development in flower petals from *Commelina communis*. *Nature* 358: 515–518.

Lamb C. y Dixon R. A. (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251–275.

Li J., Ou-Lee T.-M., Raba R., Amundson R. G. y Last R. L. (1993) *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *Plant Cell* 5: 171–179.

Lichtenthaler H. K. (1999) The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 47–65.

Logemann E., Parniske M. y Hahlbrock K. (1995) Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 5905–5909.

Lunau K. (1992) A new interpretation of flower guide colouration: Absorption of ultraviolet light enhances colour saturation. *Plant Sys. Evol.* 183: 51–65.

McConn M., Creelman R. A., Bell E., Mullet J. E. y Browse J. (1997) Jasmonate is essential for insect defense in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 5473–5477.

Nürnberger T. y Scheel D. (2001) Signal transmission in the plant immune response. *Trends Plant Sci.* 6: 372–379.

Papadopoulou K., Melton R. E., Legget M., Daniels M. J. y Osbourn A. E. (1999) Compromised disease resistance in saponin-deficient plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 12923–12928.

Pearce G., Strydom D., Johnson S. y Ryan C. A. (1991) A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* 253: 895–898.

Peumans W. J. y Van Damme E. J. M. (1995) Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* 109: 347–352.

Poulton J. E. (1990) Cyanogenesis in plants. *Plant Physiol.* 94: 401–405.

Renwick J. A. A., Radke C. D., Sachdev-Gupta K. y Staedler E. (1992) Leaf surface chemicals stimulating oviposition by *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) on cabbage. *Chemoecology* 3: 33–38.

Rosenthal G. A. (1991) The biochemical basis for the deleterious effects of L-canavanine. *Phytochemistry* 30: 1055–1058.

Ryals J. A., Neuenschwander U. H., Willits M. G., Molina A., Steiner H.-Y. y Hunt M. D. (1996) Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8: 1809–1819.

Sandberg S. L. y Berenbaum M. R. (1989) Leaf-tying by tortricid larvae as an adaptation for feeding on phototoxic *Hypericum perforatum*. *J. Chem. Ecol.* 15: 875–886.

Shulaev V., Silverman P. y Raskin I. (1997) Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature* 385: 718–721.

Trapp S. y Croteau R. (2001) Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 689–724.

Turlings T. C. J., Loughrin J. H., McCall P. J., Rose U. S. R., Lewis W. J. y Tumlinson J. H. (1995) How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4169–4174.

van der Fits L. y Memelink J. (2000) ORCA3, a jasmonate-responsive transcriptional regulator of plant primary and secondary metabolism. *Science* 289: 295–297.

Young N. D. (2000) The genetic architecture of resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 285–290.